

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-515202

(P2023-515202A)

(43)公表日 令和5年4月12日(2023.4.12)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 7 6
A 6 1 K 9/51 (2006.01)	A 6 1 K 9/51	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/44 (2017.01)	A 6 1 K 47/44	
A 6 1 K 47/34 (2017.01)	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全63頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2022-551589(P2022-551589)	(71)出願人	511254321
(86)(22)出願日	令和3年2月26日(2021.2.26)		セレクト バイオサイエンス インコ
(85)翻訳文提出日	令和4年10月26日(2022.10.26)		ーポレーテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2021/019927		S E L E C T A B I O S C I E N C E
(87)国際公開番号	WO2021/174013		S , I N C .
(87)国際公開日	令和3年9月2日(2021.9.2)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(31)優先権主張番号	62/981,602		2 4 7 2、ウォータータウン、グローブ
(32)優先日	令和2年2月26日(2020.2.26)		ストリート 6 5
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		6 5 G r o v e S t r e e t , W a t
(31)優先権主張番号	62/981,595		e r t o w n , M A 0 2 4 7 2 , U n
(32)優先日	令和2年2月26日(2020.2.26)		i t e d S t a t e s o f A m e r
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	i c a
(31)優先権主張番号	62/981,612		100102842
	最終頁に続く	(72)発明者	弁理士 葛和 清司
			イリンスキー, ペトル
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを使用する方法および組成物

(57)【要約】

本明細書に提供されるのは、例えば、オートファジーを誘導するおよび/または寛容原性の表現型を促進するために使用され得る、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアに関連する方法および組成物である。

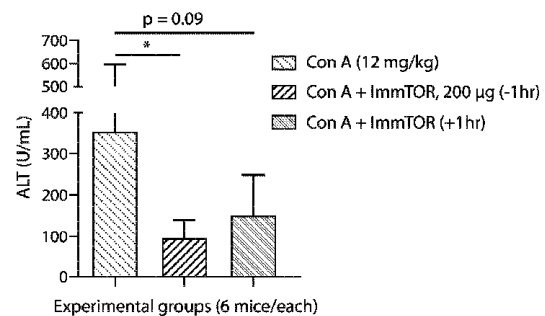


FIG. 2

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象におけるオートファジーを誘導するまたは増大させる、および／または対象におけるオートファジー関連疾患または障害を処置または予防する方法であって：
免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；
ここで、対象は、オートファジーの誘導または増大の必要がある、および／またはオートファジー関連疾患または障害を有する、および／またはそれを発症するリスクにある、
前記方法。

【請求項 2】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、肝臓におけるオートファジーを増大させるか、または免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、肝臓以外のいずれかの場所におけるオートファジーを誘導するまたは増大させるためのものである、請求項 1 に記載の方法。 10

【請求項 3】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、治療的高分子に付随して (concomitantly) 投与されない、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、治療的高分子と同時に (simultaneously) 投与されない、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、ウイルスベクターに付随して投与されない、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 6】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、ウイルスベクターと同時に投与されない、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 7】

ウイルスベクター、治療的高分子または A P C 提示可能抗原を投与することをさらに含む、1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、A P C 提示可能抗原に付随して投与されない、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項 9】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、A P C 提示可能抗原と同時に投与されない、請求項 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、オートファジー関連疾患または障害を処置または予防するための別の治療薬に付随して投与されない、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 11】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが、オートファジー関連疾患または障害を処置または予防するための別の治療薬と同時に投与されない、請求項 1 または 2 に記載の方法。 40

【請求項 12】

オートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を同定および／または提供することをさらに含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

オートファジー関連疾患または障害が、自己免疫疾患、C N S 疾患または障害、神経変性疾患、炎症性疾患、肝疾患、腎疾患、心血管疾患、筋変性疾患、および感染性疾患からなる群から選択される、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

対象における臓器または組織移植に関連する疾患または障害を処置または予防する方法 50

であって：

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；

ここで対象が、移植拒絶反応または拒絶反応に関連する疾患または障害を有するか、またはそれを発症するリスクにある、

前記方法。

【請求項 15】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、臓器または組織移植に関連する免疫応答を低減させる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

免疫応答の低減が、免疫バイオマーカーを媒介することを含む、請求項 15 に記載の方法。 10

【請求項 17】

免疫バイオマーカーが、MHCクラスII複合体、PD-1、PD-L1、CD80、CD86、CD4 T細胞、CD4およびCD25制御性T細胞、および/またはCD8 T細胞を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、寛容原性の表現型を増大させる、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

臓器または組織移植に関連する疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を同定および/または提供することをさらに含む、請求項 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 20】

対象における自己免疫疾患または障害を処置または予防する方法であって：

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；

ここで対象が、自己免疫疾患または障害を有するか、またはそれを発症するリスクにある、

前記方法。

【請求項 21】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、自己免疫疾患または障害に関連する免疫応答を低減させる、請求項 20 に記載の方法。 30

【請求項 22】

免疫応答の低減が、免疫バイオマーカーを媒介することを含む、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

免疫バイオマーカーが、MHCクラスII複合体、PD-1、PD-L1、CD80、CD86、CD4 T細胞、CD4およびCD25制御性T細胞、および/またはCD8 T細胞を含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、寛容原性の表現型を増大させる、請求項 20 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 25】

自己免疫疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を同定および/または提供することをさらに含む、請求項 20 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

対象におけるNF-κB媒介性の炎症を処置または予防する方法であって：

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；

ここで対象が、NF-κB媒介性の炎症を有するか、またはそれを発症するリスクにある、

前記方法。

【請求項 27】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、NF - k B 媒介性の炎症を低減させる、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

NF - k B 媒介性の炎症の低減が、免疫バイオマーカーを媒介することを含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

免疫バイオマーカーが、MHC クラス II 複合体、PD - 1、PD - L 1、CD 8 0、CD 8 6、CD 4 T 細胞、CD 4 および CD 2 5 制御性 T 細胞、および / または CD 8 T 細胞を含む、請求項 28 に記載の方法。

10

【請求項 30】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、寛容原性の表現型を増大させる、請求項 26 ~ 29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

NF - k B 媒介性の炎症を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を同定および / または提供することをさらに含む、請求項 26 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

対象における 1) PD - L 1 および / または PD - 1 を上方調節する、および / または 2) MHC クラス II および / または CD 8 0 および / または CD 8 6 を下方調節する方法であって：

20

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；
ここで対象が、かかる上方調節および / または下方調節を必要とする、
前記方法。

【請求項 33】

対象が、自己免疫疾患または障害、アレルギー、または移植片または移植拒絶反応を有する、またはそれを発症するリスクにある、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

免疫応答の低減が、免疫バイオマーカーを媒介することを含む、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

30

免疫バイオマーカーが、MHC クラス II 複合体、PD - 1、PD - L 1、CD 8 0 および / または CD 8 6 を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、寛容原性の表現型を増大させる、請求項 32 ~ 35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

上方調節および / または下方調節を必要とする対象を同定および / または提供することをさらに含む、請求項 32 ~ 36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

対象における二重陰性 T 細胞を増強する方法であって：

40

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み；
ここで対象が、かかる増強を必要とする、
前記方法。

【請求項 39】

対象が、虚血性脳卒中、重症筋無力症、全身性紅斑性狼瘡、自己免疫性リンパ増殖症候群、ベーチェット病 (BD)、自己免疫性リンパ増殖症候群 (カナル・スミス症候群としても知られる ALPS)、小児自己免疫、SLE、シェーグレン症候群、または乾癬を有する、またはそれを発症するリスクにある、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

免疫応答の低減が、二重陰性 T 細胞増強の免疫バイオマーカーを媒介することを含む、

50

請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与が、寛容原性の表現型を増大させる、請求項 38 ~ 40 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

増強を必要とする対象を同定および / または提供することをさらに含む、請求項 38 ~ 41 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

免疫抑制薬が、mTOR インヒビターである、請求項 1 ~ 42 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 44】

mTOR インヒビターが、ラパマイシンまたはラパログである、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

免疫抑制薬が、合成ナノキャリア中にカプセル化されている、請求項 1 ~ 44 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

合成ナノキャリアが、脂質ナノ粒子、ポリマー性ナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースのエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウイルス様粒子またはペプチドもしくはタンパク質粒子を含む、請求項 1 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 47】

合成ナノキャリアが、ポリマー性ナノ粒子を含む、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

ポリマー性ナノ粒子が、ポリエステル、ポリエーテルに付着したポリエステル、ポリアミノ酸、ポリカーボネート、ポリアセタール、ポリケタール、多糖、ポリエチルオキサゾリンまたはポリエチレンイミンを含む、請求項 47 に記載の方法。

【請求項 49】

ポリマー性ナノ粒子が、ポリエステルまたはポリエーテルに付着したポリエステルを含む、請求項 48 に記載の方法。

30

【請求項 50】

ポリエステルが、ポリ(乳酸)、ポリ(グリコール酸)、ポリ(乳酸 - グリコール酸コポリマー)またはポリカプロラク톤を含む、請求項 48 または 49 に記載の方法。

【請求項 51】

ポリマー性ナノ粒子が、ポリエステルおよびポリエーテルに付着したポリエステルを含む、請求項 48 ~ 50 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

ポリエーテルが、ポリエチレングリコールまたはポリプロピレングリコールを含む、請求項 48 ~ 51 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

合成ナノキャリアの集団の動的光散乱を用いて得られる粒子サイズ分布の平均が、110 nm より大きな直径である、請求項 1 ~ 52 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 54】

直径が、150 nm より大きい、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 55】

直径が、200 nm より大きい、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

直径が、250 nm より大きい、請求項 55 に記載の方法。

【請求項 57】

直径が、5 μm より小さい、請求項 53 ~ 56 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 58】

直径が、 $4\text{ }\mu\text{m}$ より小さい、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 59】

直径が、 $3\text{ }\mu\text{m}$ より小さい、請求項 58 に記載の方法。

【請求項 60】

直径が、 $2\text{ }\mu\text{m}$ より小さい、請求項 59 に記載の方法

【請求項 61】

直径が、 $1\text{ }\mu\text{m}$ より小さい、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

直径が、 750 nm より小さい、請求項 61 に記載の方法。

10

【請求項 63】

直径が、 500 nm より小さい、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 64】

直径が、 450 nm より小さい、請求項 63 に記載の方法。

【請求項 65】

直径が、 400 nm より小さい、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 66】

直径が、 350 nm より小さい、請求項 65 に記載の方法。

【請求項 67】

直径が、 300 nm より小さい、請求項 66 に記載の方法。

20

【請求項 68】

合成ナノキャリア中に含まれる免疫抑制薬の負荷量が、合成ナノキャリア全体の平均で、 0.1% ～ 50% （重量/重量）である、請求項 1～67 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 69】

負荷量が、 4% ～ 40% である、請求項 68 に記載の方法

【請求項 70】

負荷量が、 5% ～ 30% である、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

負荷量が、 8% ～ 25% である、請求項 70 に記載の方法。

30

【請求項 72】

合成ナノキャリアの集団のアスペクト比が、 $1:1$ 、 $1:1.2$ 、 $1:1.5$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:5$ 、 $1:7$ または $1:10$ 以上である、請求項 1～71 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2020年4月14日に提出された国際特許出願第PCT/US2020/028132号の一部継続出願である。優先権の利益は、2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981606号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981612号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981594号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981584号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981586号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981589号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981595号；2020年2月26日に提出された米国仮出願第62/981602号；および2020年4月14日に提出された国際特許出願第PCT/US2020/028132号の米国特許法第119条、米国特許法第120条、または米国特許法第365条（b）の下で主張される。これらの出願の各々の内容は、それらの全体において、参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0002】

50

本発明の分野

本明細書に提供されるのは、オートファジーを誘導する、および／または免疫寛容（tolerogenesis）を促進するための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアに関する方法および組成物である。組成物および方法は、オートファジー関連疾患または障害を処置または予防するために、および／または本明細書に提供されるとおりの特定の免疫応答をモジュレートするために使用されてもよい。組成物および方法は、対象における、中枢神経系（CNS）疾患または障害、臓器または組織の移植に関連する疾患または障害、または自己免疫疾患または障害を処置または予防するために使用されてもよい。組成物および方法は、対象における、NF- κ B媒介性の炎症を処置または予防するために、1）PD-L1および／またはPD-1上方調節、および／または2）MHCクラスIIおよび／またはCD80および／またはCD86下方調節のために、および／または二重陰性T細胞を増大させるために、使用されてもよい。

【発明の概要】

【0003】

本発明の概要

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象におけるオートファジーを誘導するまたは増大させるための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含む。一態様において、対象は、オートファジーの誘導または増大を必要とするものである。

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象におけるオートファジー関連疾患または障害を処置または予防するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、オートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを発症するリスクにある。

【0004】

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象における中枢神経系（CNS）疾患または障害（例として、神経変性疾患または障害）を処置または予防するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、CNS疾患または障害を有するか、またはそれを発症するリスクにある。提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、中枢神経系（例として、脳、脊髄、視神経）におけるオートファジーを増大させる。

【0005】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、肝臓におけるオートファジーを増大させる。提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、肺、心臓、腎臓または脳、またはそれらのいずれかの組み合わせにおけるオートファジーを増大させ得る。

【0006】

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象における臓器または組織移植に関連する疾患または障害を処置または予防するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、臓器または組織移植に関連する疾患または障害または状態を有するか、またはそれを発症するリスクにある。

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、対象は、移植片対宿主病（GVHD）を有するか、またはそれを有するリスクにあるものである。本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、対象は、骨髄または幹細胞移植片に関連する移植片対宿主病（GVHD）を有するか、またはそれを有するリスクにあるものである。本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、臓器または組織移植に関連する疾患または障害は、移植片対宿主病（GVHD）ではない。

【0007】

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象における自己免疫疾患または障害を

処置または予防するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、自己免疫疾患または障害を有するか、またはそれを発症するリスクにある。

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象におけるNF-κB媒介性の炎症を処置または予防するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、NF-κB媒介性の炎症を有するか、またはそれを発症するリスクにある。

【0008】

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象において、1)PD-L1および/またはPD-1を上方調節する、および/または2)MHCクラスIIおよび/またはCD80および/またはCD86を下方調節するための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、かかる上方調節および/または下方調節を必要とする。

10

一側面において、本明細書に提供されるのは、対象において二重陰性T細胞を増強させるための方法であって、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物を対象に投与することを含み、ここで対象は、かかる増強を必要とする。

【0009】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、オートファジーを誘導する(例として、ATG7、LC3II、および/またはp62のレベルをモジュレートする)。

20

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、対象は、自己免疫疾患または障害、アレルギー、移植片または移植拒絶反応、または抗薬物抗体応答を有するか、またはそれを発症するリスクにあるか、または治療的な薬物免疫原性を緩和する必要がある。

【0010】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、対象は、虚血性脳卒中、重症筋無力症、全身性紅斑性狼瘡、自己免疫性リンパ増殖症候群、ベーチェット病(BD)、自己免疫性リンパ増殖症候群(カナル・スミス症候群としても知られるALPS)、小児自己免疫、SLE、シェーグレン症候群、または乾癬を有するか、またはそれを発症するリスクにある。

30

【0011】

提供される方法のいずれか1つのいくつかの態様において、方法は、免疫応答を低減させるおよび/または免疫バイオマーカーを媒介することを含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫バイオマーカーは、MHCクラスII複合体、PD-1、PD-L1、CD80、CD86、CD4 T細胞、CD4およびCD25制御性T細胞、および/またはCD8 T細胞を含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫バイオマーカーは、MHCクラスII複合体、PD-L1、CD80および/またはCD86を含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫バイオマーカーは、1以上の二重陰性T細胞バイオマーカーを含む。

【0012】

40

提供される方法のいずれか1つのいくつかの態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、寛容原性の表現型を増大させる。

提供される方法のいずれか1つのいくつかの態様において、方法は、本明細書に提供される方法または組成物を必要とする対象を同定および/または提供することをさらに含む。

提供される方法のいずれか1つのいくつかの態様において、方法は、臓器または組織移植に関連する疾患または障害を有するかまたはそれを有すると疑われる対象を同定および/または提供することをさらに含む。

【0013】

提供される方法のいずれか1つのいくつかの態様において、方法は、自己免疫疾患また

50

は障害を有するかまたはそれを有すると疑われる対象を同定および／または提供することをさらに含む。

提供される方法のいずれか１つのいくつかの態様において、方法は、NF-κB媒介性の炎症を有するかまたはそれを有すると疑われる対象を同定および／または提供することをさらに含む。

【0014】

提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、治療的高分子に付随して（concomitantly）投与されないか、または治療的高分子と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別の（例として、同じ投与される組成物ではない）投与との組み合わせに付随して投与される。提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、治療的高分子と同時に投与されない。

10

【0015】

提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、ウイルスベクターに付随して投与されないか、またはウイルスベクターと免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別の（例として、同じ投与される組成物ではない）投与との組み合わせに付随して投与される。提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、ウイルスベクターと同時に投与されない。

【0016】

提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、APC提示可能抗原に付随して投与されないか、またはAPC提示可能抗原と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別の（例として、同じ投与される組成物ではない）投与との組み合わせに付随して投与される。提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、APC提示可能抗原と同時に投与されない。

20

【0017】

提供される方法のいずれか１つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法または組成物を必要とする対象を提供することをさらに含む。

提供される方法のいずれか１つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要とするとして、または本明細書に提供される疾患または障害または状態のいずれか１つを有するか、またはそれを有するリスクにあるとして、対象を同定することをさらに含む。

30

【0018】

本明細書に提供される方法のいずれか１つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、本明細書に提供されるとおりのいずれかの１以上に有効な量にある。方法は、異なる目的のために免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量にある。

【0019】

提供される方法のいずれか１つの一態様において、方法は、オートファジーの誘導または増大を必要とする、またはオートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を提供することをさらに含む。

40

本明細書に提供される方法のいずれか１つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要とする、またはオートファジーの誘導または増大を必要とするとして、またはオートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われるとして、対象を同定することをさらに含む。

【0020】

本明細書に提供される方法のいずれか１つの一態様において、オートファジーを誘導するまたは増大させるための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、対象におけるオートファジーを誘導するまたは増大させるための有効量にある。

本明細書に提供される方法のいずれか１つの一態様において、オートファジー関連疾患または障害を処置または予防するための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、オートフ

50

ァジー関連疾患または障害を処置または予防するための有効量にある。方法は、異なる目的のために（例として、オートファジーを誘導するまたは増大させるためではない）免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量で投与される。

【0021】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、オートファジー関連疾患または障害は、自己免疫疾患、神経変性疾患、炎症性疾患、糖尿病（例として、I型、II型）、肝疾患、腎疾患、心血管疾患、筋変性疾患、代謝疾患、メタボリックシンドローム、リソソームの保管障害、老化現象に関する疾患、ミトコンドリア疾患、および感染性疾患からなる群から選択される。

10

【0022】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、CNS疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を提供することをさらに含む。

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要としているとして、またはCNS疾患または障害を有するか、またはそれを有するリスクにあるとして、対象を同定することをさらに含む。

【0023】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、CNS疾患または障害を処置または予防するための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、オートファジーを誘導するまたは増大させる、または、CNS疾患または障害を処置または予防するための有効量にある。方法は、異なる目的のために（例として、オートファジーを誘導するまたは増大させるためではない）免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量で投与される。

20

【0024】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、CNS疾患または障害は、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、および筋萎縮性側索硬化症（ALS）からなる群から選択される。

提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、臓器または組織移植に関連する疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を提供することをさらに含む。

30

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要とするとして、または臓器または組織移植に関連する疾患または障害を有するか、またはそれを有するリスクにあるとして、対象を同定することをさらに含む。

【0025】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、臓器または組織移植に関連する疾患または障害を処置または予防するための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、臓器または組織移植に関連する疾患または障害を処置または予防するための、および/または寛容原性の表現型を促進するための有効量にある。方法は、異なる目的のために免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量にある。

40

【0026】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、自己免疫疾患または障害を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を提供することをさらに含む。

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要とするとして、または自己免疫疾患または障害を有するか、それを有するリスクにあるとして、対象を同定することをさらに含む。

【0027】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、自己免疫疾患または障害を処置または予防するための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、本明細書に提供され

50

る免疫応答のいずれか1つをモジュレートするための、および/または自己免疫疾患または障害を処置または予防するための有効量にある。方法は、異なる目的のために免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量にある。

【0028】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、NF-kB媒介性の炎症を有するか、またはそれを有すると疑われる対象を提供することをさらに含む。

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、方法は、本明細書に提供される方法を必要とするとして、またはNF-kB媒介性の炎症を有するか、またはそれを有するリスクにあるとして、対象を同定することをさらに含む。

10

【0029】

本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、NF-kB媒介性の炎症を処置または予防するための有効量にある。方法は、異なる目的のために免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの別々の投与を含んでもよく、かかる態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる異なる目的のために有効な量にある。

【0030】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、対象は、本明細書に提供されるいずれか1つの対象である。一態様において、対象は、小児のまたは若年の対象である。

提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬は、mTORインヒビターである。提供される方法のいずれか1つの一態様において、mTORインヒビターは、ラパマイシンまたはラパログである。

20

【0031】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、免疫抑制薬は、合成ナノキャリア中にカプセル化されている。

提供される方法のいずれか1つの一態様において、合成ナノキャリアは、脂質ナノ粒子、ポリマー性ナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースのエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウイルス様粒子またはペプチドもしくはタンパク質粒子を含む。

提供される方法のいずれか1つの一態様において、ポリマー性ナノ粒子は、ポリエステル、ポリエーテルに結合したポリエステル、ポリアミノ酸、ポリカーボネート、ポリアセタール、ポリケタール、多糖、ポリエチルオキサゾリンまたはポリエチレンイミンを含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、ポリマー性ナノ粒子は、ポリエステルまたはポリエーテルに結合したポリエステルを含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、ポリエステルは、ポリ(乳酸)、ポリ(グリコール酸)、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)またはポリカプロラクトンを含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、ポリマー性ナノ粒子は、ポリエステルおよびポリエーテルに結合したポリエステルを含む。提供される方法のいずれか1つの一態様において、ポリエーテルは、ポリエチレングリコールまたはポリプロピレングリコールを含む。

30

【0032】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、合成ナノキャリアの集団の動的光散乱を使用して得られる粒子サイズ分布の平均は、110nmより大きい、150nmより大きい、200nmより大きい、または250nmより大きい直径である。提供される方法のいずれか1つの一態様において、合成ナノキャリアの集団の動的光散乱を使用して得られる粒子サイズ分布の平均は、5μm未満、4μm未満、3μm未満、2μm未満、1μm未満、750nm未満、500nm未満、450nm未満、400nm未満、350nm未満、または300nm未満である。

40

【0033】

提供される方法のいずれか1つの一態様において、合成ナノキャリア中に含まれる免疫抑制薬の負荷量は、合成ナノキャリア全体の平均で、0.1%~50%(重量/重量)、

50

4 % ~ 4 0 %、5 % ~ 3 0 %、または 8 % ~ 2 5 % である。

提供される方法のいずれか 1 つの一態様において、合成ナノキャリアの集団のアスペクト比率は、1 : 1、1 : 1 . 2、1 : 1 . 5、1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 7 または 1 : 1 0 以上である。

【 0 0 3 4 】

本明細書に提供される方法のいずれか 1 つの一態様において、対象は、肝疾患または障害を有しないものであり、および / または肝疾患または障害または肝臓毒性を処置または予防するための、本明細書に提供される組成物を必要するものではない。

別の側面において、提供される方法のいずれか 1 つまたは例のいずれか 1 つに記載される組成物が、提供される。一態様において、組成物は、提供される方法のいずれか 1 つによる投与のための組成物のいずれか 1 つである。 10

別の側面において、組成物のいずれか 1 つは、提供される方法のいずれか 1 つにおいて使用されるためのものである。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 5 】

図面の簡単な説明

【 図 1 】 図 1 は、未処置の、または空のナノ粒子もしくは ImmTOR (商標) で処置のいずれかの OTC 欠損症のマウスモデルにおけるオートファジーマーカーである LC3 II、p26、および ATG7 のレベルを示す。

【 図 2 】 図 2 は、マウスをポリクローナル T 細胞アクチベーターであるコンカナバリン A (Con A) でチャレンジした 24 時間後において、ImmTOR (商標) による予防的または治療的処置が、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の血清レベルを低減させることを示す。統計的有意性は示された (*、 $p < 0.05$)。 20

【 0 0 3 6 】

【 図 3 】 図 3 は、若年性 OTC^{spf}-ash マウスにおける ImmTOR (商標) ナノ粒子の忍容性研究の結果である、処置されたマウスの肝臓ライセートにおけるオートファジーマーカーを示す (図 3)。

【 図 4 】 図 4 A および 4 B は、ImmTOR (商標) 粒子が、12 mg / kg ImmTOR (商標) ナノ粒子または 12 mg / kg の空の粒子 ($n = 4$ / 群) を静脈内に注射した若年性 OTC^{spf}-ash マウスの肝臓において、オートファジーを誘導することを示す。図 4 A は、ATG7、LC3 II、および p62 のウェスタンブロット分析を示す。図 4 B は、ATG7、LC3 II、および p62 のレベルのデンシトメトリー定量 (densitometric quantification) を示す。統計分析は、テューキーの多重比較検定を用いた一元配置 ANOVA によって実施した。 (* p 値 < 0.05)。 30

【 0 0 3 7 】

【 図 5 】 図 5 A は、後眼窩 (r.o.) 注射による肝臓への ImmTOR (商標) トラフィッキングの検出および表現型の特徴付けの研究設計を示す (ImmTOR (商標) - Alexa488 または ImmTOR - A488 ; カプセル化された蛍光タグ Alexa488 で修飾された ImmTOR)。ImmTOR は、200 μ g ラパマイシン (RAPA) を含有する。結果はフローサイトメトリーを介して検出された。マウスを脾臓および肝臓の収穫の 72 時間、48 時間、および / または 24 時間前に、ImmTOR (商標) で注射した。ImmTOR (商標) 投与の時間を、矢印により示す。図 5 B は、マウスへの ImmTOR (商標) - A488 注射の 72 時間、48 時間、および 24 時間後の、収穫された肝臓細胞への ImmTOR (商標) - A488 トラフィッキングの結果のフローサイトメトリーを示す。結果を、ナイーヴ処置 (対照) 群と比較した棒グラフに示す。 40

【 0 0 3 8 】

【 図 6 】 図 6 A は、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 のマウスへの投与の 7 日後、肝細胞および肝臓洞内皮細胞 (LSEC) における MHC クラス II の発現および PD-L1 発現のフローサイトメトリー結果を示す。図 6 B は、夫々、ナイーヴ処置 (対照) 群と比較した、肝細胞合計、200 μ g ラパマイシンを含む ImmT 50

OR (商標) - CY5 を含まない肝細胞、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 を含む肝細胞およびナイーブ処置 (対照) の、減少した MHC - II 発現および増大した PD - L1 発現の棒グラフを示す。

【0039】

【図7】図7は、細胞の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後、肝類洞内皮細胞 (LSEC)、クッパー細胞 (KC) および肝臓 - レジデント T 細胞における応答を評価する研究設計を示す。

【図8】図8Aおよび8Bは、肝類洞内皮細胞 (LSEC、図8A) またはクッパー細胞 (KC、図8B) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の PD - L1 の発現を示す。統計的有意性は示された (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。 10

【0040】

【図9】図9Aおよび9Bは、肝類洞内皮細胞 (LSEC、図9A) またはクッパー細胞 (KC、図9B) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の MHC クラス II の発現を示す。統計的有意性は示された (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。

【図10】図10は、肝類洞内皮細胞 (LSEC) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の PD - L1 の上方調節された発現を示すフローサイトメトリーおよび棒グラフ結果を示す。統計的有意性は示された (** $p < 0.01$)。 20

【0041】

【図11】図11Aは、肝類洞内皮細胞 (LSEC) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の肝類洞内皮細胞 (LSEC) における CD80 の下方調節された発現を示す棒グラフ結果を示す。統計的有意性は示された (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。図11Bは、肝類洞内皮細胞 (LSEC) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の肝類洞内皮細胞 (LSEC) における CD86 の下方調節された発現を示す棒グラフ結果を示す。統計的有意性は示された (** $p < 0.01$)。 30

【0042】

【図12】図12は、収穫された LSEC が、肝類洞内皮細胞 (LSEC) の収穫の7日、5日、および3日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) - CY5 の投与後の、有意に下方調節された CD80 および CD86、ならびに有意に上方調節された PD - L1 を実証したことを組み合わせた場合、LSEC における寛容原性の表現型の誘導を示す棒グラフ結果を示す。統計的有意性は示された (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。 40

【0043】

【図13】図13は、(1) 後眼窩 (r.o.) 注射を介した 200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) および未処置対照、ならびに (2) 後眼窩 (r.o.) 注射を介した 200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標)、腹腔内 (i.p.) 注射を介した遊離の可溶性の 200 μ g ラパマイシン、および未処置対照の効果を比較するための研究設計を示す。すべての注射は、肝臓レジデント T 細胞の収穫の7日前に投与された。いくつかの注射は、肝臓細胞の収穫の5日または3日前に投与された。 50

【0044】

【図14】図14A ~ 14C は、肝臓細胞の収穫の7日、5日、および3日の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) の投与後の (A) 肝臓レジデント CD4 T 細胞、(B) 肝臓 CD4 および CD25 制御性 T 細胞、および (C) 肝臓 CD4 PD - 1 + T 細胞の発現の棒グラフを示す。統計的有意性は示された (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.001$ 、*** $p < 0.0001$)。 50

【0045】

【図 15】図 15 A および 15 B は、(A) 200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標)、可溶性の 200 μ g ラパマイシンの投与後、および未処置群の、マウス肝臓レジデント寛容原性 CD4⁺ T 細胞における CD4⁺CD25⁺PD-1⁺ の発現の棒グラフを示す。統計的有意性は示された ($*p < 0.05$)。(B) 細胞の収穫の 7 日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) の投与後の肝臓レジデント寛容原性の CD4⁺ T 細胞における CD4⁺CD25⁺PD-1⁺ ($***p < 0.001$)。

【0046】

【図 16】図 16 A および 16 B は、(A) 200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標)、可溶性の 200 μ g ラパマイシンの投与後、および未処置群の、マウス肝臓レジデント寛容原性 CD8⁺ T 細胞における CD8⁺(CD3⁺CD8⁺) T 細胞および二重陰性 (CD3⁺CD4⁺CD8⁻) T 細胞の発現の棒グラフを示す。統計的有意性は示された。($*p < 0.05$ 、 $**p < 0.001$) (B) 細胞の収穫の 7 日前の、200 μ g ラパマイシンを含む ImmTOR (商標) の投与後、および未処置群の、二重陰性 (CD3⁺CD4⁺CD8⁻) T 細胞。統計的有意性は示された ($***p < 0.001$)。

10

【0047】

【図 17】図 17 は、GvHD における低い致死率が本明細書に提供される合成ナノキャリアによってどのように制限され得るかを実証する。

【図 18】図 18 は、GvHD における重量減少が本明細書に提供される合成ナノキャリアによってどのように制限され得るかを実証する。

【図 19】図 19 は、本明細書に提供される合成ナノキャリアがどのようにドナー細胞の生存を可能にする一方で宿主リンパ球を保存するかを実証する。

20

【0048】

【図 20】図 20 は、GvHD における低い致死率が用量依存的な様式において本明細書に提供される合成ナノキャリアによってどのように制限され得るかを実証する。

【図 21】図 21 は、本明細書に提供される合成ナノキャリアの単回用量が、どのように GvHD 致死率を救済し得るかを実証する。

【図 22】図 22 は、本明細書に提供される合成ナノキャリアが、どのように GvHD の兆候を低減し得るかを実証する。

【図 23】図 23 は、本明細書に提供される合成ナノキャリアが、どのようにドナー細胞生存を促進し得るかを実証する。

30

【発明を実施するための形態】

【0049】

発明の詳細な説明

本発明を詳細に記載する前に、本発明は、特に例示される材料またはプロセスのパラメーターに限定されるものではなく、したがって、無論変化してもよいことが理解されるべきである。また、本明細書において用いられる用語は、単に発明の特定の態様を記載することを目的とするものであって、本発明に記載するための代替的な用語の使用の限定要因となることを意図するものではないことも、理解されるべきである。

本明細書において引用される全ての刊行物、特許および特許出願は、上記または下記のいずれにおいても、本明細書によりその全体において全ての目的のために参考として援用される。

40

【0050】

本明細書および添付の請求の範囲において用いられる場合、単数形「a」、「an」および「the」は、内容が明らかに他を示さない限りにおいて、複数の指示物を含む。例えば、「a polymer」に対する参照は、2 つ以上のかかる分子の混合物、または単一のポリマー種の異なる分子量のものの混合物を含み、「合成ナノキャリア」に対する参照は、2 つ以上のかかる合成ナノキャリアまたは複数のかかる合成ナノキャリアの混合物などを含む。

【0051】

本明細書において用いられる場合、用語「含む (comprise)」またはそのバリエーシ

50

ョン、例えば「含む (comprises)」または「含むこと (comprising)」は、任意の列記される完全体 (integer) (例えば特色 (a feature)、要素 (element)、特徴 (characteristic)、特性 (property)、方法 / プロセスのステップ (method/process step) もしくは限定要因 (limitation))、または完全体の群 (例えば特色 (features)、要素 (elements)、特徴 (characteristics)、特性 (properties)、方法 / プロセスのステップ (method/process steps) もしくは限定要因 (limitations)) の包含を示すように読まれるべきであるが、任意の他の完全体または完全体の群の除外を示すものとして読まれるべきではない。したがって、本明細書において用いられる場合、用語「含むこと (comprising)」は、包括的であって、さらなる、列記されていない完全体または方法 / プロセスのステップを除外するものではない。

10

【0052】

本明細書において提供される組成物および方法のうちのいずれか1つの態様において、「含むこと (comprising)」は、「から本質的になる (consisting essentially of)」または「からなる (consisting of)」により置き換えることができる。句「から本質的になる (consisting essentially of)」は、本明細書において、特定の完全体またはステップ、ならびに請求される発明の特徴または機能に対して物質的に影響を及ぼさないものを必要とするように用いられる。本明細書において用いられる場合、用語「からなる (consisting)」は、(例えば特色 (a feature)、要素 (element)、特徴 (characteristic)、特性 (property)、方法 / プロセスのステップ (method/process step) もしくは限定要因 (limitation))、または完全体の群 (例えば特色 (features)、要素 (elements)、特徴 (characteristics)、特性 (properties)、方法 / プロセスのステップ (method/process steps) もしくは限定要因 (limitations)) のみの存在を示すように用いられる。

20

【0053】

A. 導入

オートファジーは、構成要素が細胞内で分解される機構の1つである。これは、細胞質中に存在する構成要素が、消化オルガネラであるオートファゴソーム (リソソーム) に移動し、分解されるシステムの包括的な用語である。オートファジーの誘導は、オルガネラの分解、細胞内浄化、および抗原提示などのオートファジーの既知の効果を通じて、炎症を阻害し、病原体による感染を防ぎ、その他には多種多様な疾患および障害を予防および治療し得ると考えられている。

30

【0054】

オートファジーは、CNS疾患および障害において役割を果たしていると考えられている。健康な生物において、オートファジーは、CNSにおいて構成的に活性化され、凝集体の蓄積を予防し、エネルギー需要を満たし、ニューロンの可塑性を支持する。すなわち、オートファジーは、神経保護の役割を有し、細胞の生存を促進し、神経変性から保護することが見出されている (Puyal et al., Neuroscientist, 2012 Jun; 18(3):224-36)。オートファジーまたは他のタンパク質分解系が正しく機能していない場合、ニューロンは欠陥のある、または突然変異のタンパク質凝集体を蓄積し始め、それは有毒な細胞損傷および細胞死に繋がり、最終的に神経変性をもたらす。

40

【0055】

本明細書に提供されるとおり、免疫抑制薬 (例として、ラパマイシン) を含む合成ナノキャリアの投与は、投与されたときに、オートファジーを誘導することが見出されている。本明細書に記載のとおり、本発明者らは、驚くべきことに、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物が、オートファジーを増大し得ることを見出し、疾患のマウスモデルにおいて、予防的および治療的效果を実証した。

【0056】

よって、本明細書に提供されるのは、例えば、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを投与することにより、オートファジー関連疾患または障害を有する対象を処置するための方法および関連する組成物である。本明細書に実証されるとおり、かかる方法および組成物

50

は、肝疾患のモデルにおいてなど、オートファジーの増大に一致するバイオマーカーを変更することが見出された。かかる組成物は、他の治療の不在時に投与される場合に効果的であり得、または他の治療との組み合わせにおいて、本明細書に提供されるとおりに効果的であり得る。本明細書に記載の組成物はまた、付随して投与されない場合においてさえ、遺伝子治療などの現行の治療を補完するのにも有用であり得る。

【0057】

本明細書に提供されるとおり、免疫抑制薬（例として、ラパマイシン）を含む合成ナノキャリアの投与は、有益な免疫効果を有し得、および／または寛容原性の表現型を促進し得ること、およびこれらの効果が、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの単独での投与で達成され得ることがまた、驚くべきことに見出された。かかる効果は、抗原の付随する投与の不在においてされ生じ得る。よって、本明細書に提供されるのは、自己免疫疾患または障害を処置するための、臓器または組織移植に関連する疾患または障害または状態（例として、機能不全および／または拒絶反応など）を有する対象を処置するための、NF-κB媒介性の炎症を低減、および／または関連する疾患または障害を処置するための、PD-L1/PD-1を上方調節および／またはMHCクラスII/CD80/CD86を下方調節するための、および／または関連する疾患または障害を処置するための、および二重陰性T細胞を増強および／または関連する疾患または障害を処置するための、方法および関連する組成物である。

10

【0058】

本明細書に提供される方法および組成物は、関連する免疫応答を予防またはそのレベルを低減し得る。該組成物は、他の治療の不在において投与される場合に効果的であり得、または他の治療との組み合わせにおいて、本明細書に提供されるとおりに効果的であり得る。本明細書に記載の組成物はまた、付随して投与されない場合においてさえ、現行の治療を補完するのにも有用であり得る。

20

本発明は、ここで以下により詳細に記載される。

【0059】

B. 定義

「投与すること」または「投与」または「投与する」は、対象における薬理学的な結果が存在するよう様式において、対象に材料を与えることを意味する。これは、別の臨床医または対象自体を含む別の対象に投与を行うように誘導または指示することによる、直接的または間接的な投与であってもよい。

30

【0060】

対象への投与のための組成物または用量の文脈において、「有効な量」は、本明細書に記載のとおり、対象における1以上の所望される応答を生ずる、例として、オートファジーを誘導するまたは増大させる、免疫応答をモジュレートする、または関連する疾患または障害または状態を予防または処置する、組成物または用量の量を指す。したがって、いくつかの態様において、有効な量は、本明細書に提供されるとおりの、1以上の所望される治療的効果および／または応答を生ずる、本明細書に提供される組成物または用量のいずれかの量である。この量は、in vitroまたはin vivo目的のためである。in vivo目的のために、量は、臨床医が、これを必要とする対象のための臨床的利益を有するであろうと考えるものであり得る。本明細書に提供されるとおりのラベル用量を含む組成物または用量のいずれかが1つは、有効な量であり得る。

40

【0061】

有効な量は、望ましくない応答のレベルを低減させることを含み得るが、いくつかの態様においては、それは、望ましくない応答を完全に予防することを含む。有効な量はまた、望ましくない免疫応答の発生を遅延させることを含んでもよい。有効である量はまた、所望される治療上のエンドポイントまたは所望される応答または結果を生ずる量であってもよい。他の態様において、有効な量は、治療上のエンドポイントまたは結果などの所望される応答のレベルを増強することを含み得る。有効な量は、好ましくは、本明細書において提供される対象のいずれかの疾患または障害または状態に対して、予防的結果また

50

は治療的結果またはエンドポイントをもたらす。前述のもののいずれかの達成は、慣用的な方法によりモニタリングすることができる。

【0062】

有効な量は、無論、処置されている特定の対象；状態、疾患または障害の重篤度；年齢、身体状態、サイズおよび体重を含む個々の患者のパラメーター；処置の期間；併用治療（あれば）の性質；投与の特定の経路、ならびに健康管理者の知識および専門技術の範囲内の類似の要因に依存するであろう。これらの要因は、当業者に周知であり、慣用的な実験のみを用いて取り組むことができる。一般に、最大用量、すなわち正常な医学的判断に従って、最高安全用量が使用されることが好ましい。しかしながら、患者が、医療上の理由、心理的理由、または事実上の何らかの他の理由で、より低い用量または忍容可能な用

10

【0063】

「APC提示可能抗原」は、これらに限定されないが、樹状細胞、B細胞またはマクロファージを含む抗原提示細胞により提示されるなどの、免疫系の細胞による認識のために提示され得る抗原を意味する。APC提示可能抗原は、T細胞による認識などの、細胞による認識のために提示され得る。かかる抗原は、クラスIまたはクラスII主要組織適合性複合体分子（MHC）に結合するか、またはCD1複合体に結合する抗原またはその一部の提示を介して認識され、T細胞による免疫応答の引き金となることにより認識される。

【0064】

「治療または応答を査定すること」とは、in vitroまたはin vivoでの治療または応答のレベル、その存在または不在、その低減、その増大などの、任意の測定または決定を指す。かかる測定または決定は、対象から得られる1つ以上の試料において行うことができる。かかる査定は、本明細書において提供されるか、当該分野において他に公知の方法のいずれかを用いて行うことができる。査定することは、本明細書に提供されるか、または当技術分野において他に公知のバイオマーカーのいずれか1以上を、および/または神経学的試験、神経心理学的試験、生検、および/または脳画像化の使用を通じて査定することであってもよい。例えば、査定することは、オートファジーのいずれか1以上、または本明細書に提供される、または当技術分野において公知である、オートファジー関連疾患または障害または状態のいずれか1つを査定することであってもよい。一態様において、マーカー（単数または複数）は、肝疾患/不全、炎症、腎疾患/不全、心血管疾患/不全、または糖尿病等々のものであり得る。一態様において、マーカー（単数または複数）は、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）等々のものであり得る。アルツハイマー病に関して、査定は、磁気共鳴画像法（MRI）、コンピュータ断層撮影法（CT）、陽電子放射断層撮影（PET）、精神状態試験、神経心理学試験、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。ハンチントン病に関して、査定は、神経学的試験、神経心理学試験、精神医学的評価、MRIスキャン、CTスキャン、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。パーキンソン病に関して、査定は、運動機能試験、MRIスキャン、PETスキャン、CTスキャン、単一光子放射コンピュータ断層撮影（SPECT）スキャン（ドーパミントランスポーター（DAT）スキャン）、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。同じく、ALSは、神経学的試験、筋肉および/または神経生検、頸椎の脊髄造影、X線（例として、MRIスキャン）、脊椎穿刺、電気診断試験（例として、筋電図検査、神経伝達速度）、またはそれらの組み合わせによって査定されてもよい。

20

30

40

【0065】

肝疾患/不全に関して、アスパルタートアミノトランスフェラーゼ（AST）レベル、アルカリホスファターゼ（ALP）、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ（GGT）、ビリルビン、プロトロンビン時間、総タンパク質、グロブリン、プロトロンビン、および/またはアルブミンが査定されてもよい。

いくつかの態様において、炎症のマーカーは、サイトカイン/ケモカイン、免疫に関す

50

るエフェクター、急性期タンパク質（例として、C - 反応性タンパク質、血清アミロイド A）、反応性酸素および窒素種、プロスタグランジン、およびシクロオキシゲナーゼに関する因子（例として、転写因子、成長因子）である。

腎（腎臓）疾患または障害について、クレアチニン、尿素、尿酸、シスタチン C、および / または β - トレースタンパク質が査定されてもよい。

いくつかの態様において、心血管疾患 / 不全のバイオマーカーは、ナトリウム利尿ペプチド（例として、B 型ナトリウム利尿ペプチド（BNP）、N 末端プロ B 型ナトリウム利尿ペプチド（Nt - proBNP）、および中央領域プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド（MR - proANP））および / または心臓トロポニンでありってもよい。

感染性疾患のバイオマーカーは、これらに限定されないが、総白血球数、絶対好中球数、C - 反応性タンパク質、および赤血球沈降速度を含む。 10

【0066】

「付着する」または「付着される」または「カップリングする」または「カップリングされる」（および類似のもの）は、1 つの実体（例えば部分）を別のものに化学的に会合させることを意味する。いくつかの態様において、付着は、共有結合性であり、これは、付着が、2 つの実体の間の共有結合の存在に関して起こることを意味する。非共有結合性の態様において、非共有結合性付着は、電荷相互作用、アフィニティー相互作用、金属配位、物理的吸着、ホスト - ゲスト相互作用、疎水性相互作用、TT スタッキング相互作用、水素結合相互作用、ファン・デル・ワールス相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子 - 双極子相互作用および / またはそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない、非共有結合性相互作用により媒介される。態様において、カプセル化は、付着またはカップリングの形態である。 20

【0067】

「自己免疫疾患または障害」は、免疫系が正しく機能していない疾患または障害、具体的には、対象の免疫細胞が自身の健康な細胞を攻撃する場合、または免疫系の正しい機能が損なわれている疾患または障害を指す。それは、自己抗原に対する免疫寛容性の喪失によって引き起こされる慢性的な病的状態であり得、全身または臓器特異的な損傷を引き起こし得る。いくつかの場合において、自己免疫応答は、可溶性メディエーター（例として、サイトカイン、一酸化窒素等々）および自己抗体の産生を担う自己反応性 T および / または B リンパ球によって媒介される。感染症は、自己免疫疾患または障害の原因となり得る。いくつかの態様において、自己免疫疾患または障害は、これらに限定されないが、アカシア、アジソン病、成人スチル病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗 GBM / 抗 TBM 腎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性血管性浮腫、自己免疫性自律神経失調症、自己免疫性脳脊髄炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患（AIED）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性精巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性じんましん、軸索性およびニューロン性ニューロパチー（axonal & neuronal neuropathy）（AMAN）、バロー病、ベーチェット病、良性粘膜類天疱瘡、水疱性類天疱瘡、キャスルマン病（CD）、セリアック病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIDP）、慢性再発性多発性骨髄炎（CRMO）、チャグ・ストラウス症候群（CSS）または好酸球性肉芽腫症（EGPA）、癬痕性類天疱瘡、コガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST 症候群、クローン病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状皮疹、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎（EoE）、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、混合性本態性クリオグロブリン血症、エバンス症候群、線維筋痛症、線維化性肺炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェンライン紫斑病（HSP）、妊娠性疱疹（herpes gestationis）または妊娠性類天疱瘡（pemphigoid gestationis）（PG）、化膿性汗腺炎（HS）（反転型座瘡）、低ガンマグロブリン血症、IgA 腎症、IgG4 関連硬化性疾患、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、封入体筋炎（IBM）、 30 40 50

間質性膀胱炎（IC）、若年性関節炎、若年性糖尿病（1型糖尿病）、若年性筋炎（JM）、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破砕性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質結膜炎、線状IgA病（LAD）、ループス、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎（MPA）、混合性結合組織疾患（MCTD）、モーレン潰瘍、ムッカ・ハーベルマン病、多巣性運動ニューロパチー（MMN）またはMMNCB、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、新生児ループス、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ（PR）、PANDAS、傍腫瘍性小脳変性症（PCD）、発作性夜間ヘモグロビン尿（PNH）、パリー・ロンバーグ症候群、扁平部炎（末梢ブドウ膜炎）、パーソネージ・ターナー症候群、天疱瘡、末梢神経障害、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血（PA）、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多腺性症候群I型、II型、III型、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開術後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球癆（PRCA）、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、再発性多発軟骨炎、下肢静止不能症候群（RLS）、後腹膜線維症、リウマチ熱、リウマチ性関節炎、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣自己免疫（Sperm & testicular autoimmunity）、スティッフパーソン症候群（SPS）、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、スザック症候群、交感神経性眼炎（SO）、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病（TTP）、トロサ・ハント症候群（THS）、横断性脊髄炎、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎（UC）、未分化結合組織疾患（UCTD）、ブドウ膜炎、血管炎、白斑、およびフォークト・小柳・原田病を含み得る。

【0068】

「オートファジー関連疾患」または「オートファジー関連障害」は、オートファジーまたは細胞自己消化の混乱によって引き起こされるか、またはオートファジーの誘導または増大から利益が得られる疾患または障害を指す。オートファジー機能障害は、神経変性疾患、感染性疾患、および老化の症状など、数多の疾患および障害に関連していることが見出されている。例示の、非限定的なオートファジー関連疾患または障害は、リソソーム蓄積症、神経変性疾患（例として、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病；他の運動失調症）、慢性炎症性疾患（例として、炎症性腸疾患、クローン病、リウマチ性関節炎、ループス、多発性硬化症、慢性閉塞性肺疾患／COPD、肺線維症、嚢胞性線維症、シェーグレン病；高血糖性障害、糖尿病（I型およびII型）（例として、重度のインスリン抵抗性、高インスリン血症、インスリン耐性糖尿病、メンデンホール症候群、ウェルナー症候群、レプレコーニズム、および脂肪萎縮性糖尿病）、脂質異常症（例として高脂血症、高い低比重リポタンパク質（LDL）、低い高比重リポタンパク質（HDL）、高いトリグリセリド）、メタボリックシンドローム、肝疾患、腎疾患（例として、プラーク、糸球体疾患）、心血管疾患（例として、虚血、脳卒中、再灌流中の圧力過負荷および合併症）、筋肉変性および萎縮、老化の症状（例として、筋萎縮症、フレイル、代謝障害、軽度の炎症、アテローム性動脈硬化、脳卒中、加齢性認知症、アルツハイマー病、および、うつ病を含む精神病的状態）、脳卒中、脊髄傷害、動脈硬化症、感染性疾患（例として、細菌、真菌、細胞、ウイルス感染）、発生（例として、赤血球分化）、および胚形成／生殖能力（fertility）／不妊（infertility）を含む。

【0069】

「平均（average）」は、別様に明記されない限り、平均（mean）を指す。

「付随して（concomitantly）」は、第1の組成物（例として、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリア）が、第2の組成物の有効性を増大させるなどの、第2の組成物に対する効果を有するように、時間的に相関する、好ましくは時間的に十分に相関する様式において、2以上の材料／薬剤を対象に投与すること、好ましくは、2以上の材料／薬剤が組み合わせ投与されることを意味する。態様において、付随投与は、2以上の組成物の特定された期間内の投与を包含してもよい。いくつかの態様において、2以上の組成物は、1か月以内、1週間以内、1日以内、または1時間以内に投与される。いくつかの態様において

て、付随投与は、2以上の組成物の同時投与を包含する。いくつかの態様において、2以上の組成物が付随して投与されない場合、第2の組成物に対する第1の組成物（例として、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリア）の効果はほとんどない。本明細書に提供される方法のいずれか1つの一態様において、本明細書に提供される目的のための免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、治療的高分子、ウイルスベクター、APC提示可能抗原等々などの異なる治療薬などの第2の組成物を作用させるために投与されない。

【0070】

「臓器または組織移植に関連する疾患または障害」は、移植された臓器または組織の受容または正しい機能を妨害する、および/または移植された臓器または組織の機能の停止、および臓器または組織移植の結果としてレシピエントの細胞または組織などのレシピエントにいずれかの不要な損傷を引き起こす、疾患または障害を指す。上記の根本的な原因は、これらに限定されないが、移植された臓器または組織の結果としての、またはそれらに対する反応における望ましくない免疫応答を含む。臓器または組織移植に関連する疾患または障害は、これらに限定されないが、移植拒絶反応、移植片機能障害、臓器不全、およびGVHDを含む。いくつかの態様において、「移植拒絶反応」は、急性移植拒絶反応および慢性移植拒絶反応の両者を包含する。「急性拒絶反応」は、移植された組織が免疫学的に異物である場合、組織移植レシピエントの免疫系による拒絶反応である。急性拒絶反応は、レシピエントの免疫細胞による移植された組織の浸潤によって特徴付けることができ、それらのエフェクター機能を実行し、移植された組織を破壊する。急性拒絶反応の発病は急速であり、一般にヒトでは移植外科手術後数週間以内に生ずる。いくつかの態様において、「慢性移植片拒絶反応」は、一般に、急性拒絶反応の免疫抑制の存在においてさえ、生着後数か月から数年以内にヒトで生ずる。線維症は、すべてのタイプの臓器移植の慢性拒絶反応における一般的な因子である。慢性拒絶反応は、典型的には、具体的な臓器の特徴である広範な特定の障害によって説明することができる。いくつかの態様において、移植拒絶反応は、「超急性拒絶反応」であり得、これは、抗原が完全に一致しない場合、移植後数分で生じ得る。実例として、このタイプの拒絶反応は、レシピエントに誤ったタイプの血液が与えられたときに見ることができる。移植臓器、組織または細胞（単数または複数）は、移植片が同種移植片または異種移植片であってもよいように、同種異系または異種であってもよい。移植片は、いずれかの固体臓器、皮膚などの組織であってもよい。臓器移植の例は、これらに限定されないが、腎臓移植、膵臓移植、肝臓移植、心臓移植、肺移植、腸移植、腎臓移植後の膵臓等々を含む。

【0071】

「剤形」は、対象への投与に好適な媒体、担体、ビヒクル、またはデバイス中の薬理学的および/または免疫学的に活性な材料を意味する。本明細書に提供される組成物または用量のいずれか1つは、剤形であってもよい。

「用量」は、所与の時間、対象に投与するための薬理学的および/または免疫学的に活性な材料の特定の量を指す。別様に特定されない限り、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物について記載される用量は、（すなわち、合成ナノキャリア材料の重量なしの）免疫抑制薬の重量を指す。投与のための用量に言及する場合、本明細書に提供される方法、組成物またはキットのいずれか1つの態様において、本明細書に提供される用量のいずれか1つは、ラベル/ラベル用量に現れる用量である。

【0072】

「カプセル化する（encapsulate）」とは、合成ナノキャリア中の物質のうちの少なくとも一部を封入する（enclose）ことを意味する。いくつかの態様において、物質は、合成ナノキャリア中に完全に封入される。他の態様において、封入される物質のうちの大部分または全てが、合成ナノキャリアに対して外部の局所環境に暴露されない。他の態様において、50%、40%、30%、20%、10%または5%（重量/重量）以下が、局所環境に暴露される。カプセル化は、吸収とは区別される。吸収は、物質のうちの大部分または全てを合成ナノキャリアの表面上に置き、物質が、合成ナノキャリアに対して外部の局所環境に暴露されたままにする。本明細書に提供される方法または組成物のうち

のいずれか 1 つの態様において、免疫抑制薬は、合成ナノキャリア内にカプセル化されている。

【0073】

「対象を同定すること」は、臨床医が、対象を本明細書に提供される方法または組成物、または提供されるいくつかの他の指標から利益を得る可能性があるものとして認識することを可能にするいずれかの作用または一連の作用である。いくつかの態様において、同定された対象は、オートファジー関連疾患または障害に対するオートファジーの誘導もしくは増大、または予防的または治療的処置を必要としているものである。かかる対象は、オートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを有するリスクにあるいずれかの対象を含む。いくつかの態様において、対象は、症状（および/またはその欠如）、挙動のパターン（例として、対象をリスクにおく）に基づいて、および/または本明細書に記載の 1 以上の試験（例として、バイオマーカーアッセイ、画像化研究）に基づいて、オートファジー関連疾患または障害を有すると疑われるか、またはその可能性を有することが決定されているか、またはそれを有するリスクにある。

10

【0074】

本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、移植された臓器または組織に対する免疫応答の低減または弱化の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、GVHD の処置または予防の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、自己免疫疾患または障害の観点において免疫反応の低減または弱化の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、NF- κ B 媒介性の炎症の観点において免疫応答の低減または弱化の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、1) PD-L1 および/または PD-1 上方調節、および/または 2) MHC クラス II および/または CD80 および/または CD86 下方調節、および/または寛容原性の免疫応答の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つのいくつかの態様において、対象は、二重陰性 T 細胞および/または寛容原性の免疫応答の増強の利益を受けるか、またはそれを必要とするであろうものである。

20

30

【0075】

本明細書に提供される方法のいずれか 1 つの一態様において、方法は、本明細書に提供されるとおりの組成物または方法を必要とする対象を同定することをさらに含む。作用または一連の作用は、これらに限定されないが、自分の言葉または行為に依存して作用を起こす無関係な第三者などの、直接的または間接的のいずれかである可能性がある。

【0076】

「免疫抑制薬」とは、APC に対するその効果を通して、免疫寛容原性効果を引き起こすことができる化合物を意味する、免疫寛容原性効果とは、一般に、APC または他の免疫細胞による、抗原に対する望ましくない免疫応答を耐久性のある様式において低減、阻害または予防する調節を指す。提供される方法または組成物のうちのいずれか 1 つの一態様において、免疫抑制薬は、APC に、1 つ以上の免疫エフェクター細胞における制御性の表現型を促進させるものである。例えば、制御性の表現型とは、抗原特異的 CD4 + T 細胞または B 細胞の産生の阻害、誘導、刺激または動員、抗原特異的抗体の産生の阻害、Treg 細胞（例えば、CD4 + CD25^{high} FoxP3 + Treg 細胞）の産生、誘導、刺激または動員などにより特徴づけることができる。これは、CD4 + T 細胞または B 細胞の制御性の表現型への変換の結果であり得る。これはまた、CD8 + T 細胞、マクロファージおよび iNKT 細胞などの他の免疫細胞における FoxP3 の誘導の結果でもあり得る。提供される方法または組成物のうちのいずれか 1 つの一態様において、免疫抑制薬は、APC が抗原をプロセッシングした後に、APC の応答に影響を及ぼすもので

40

50

ある。提供される方法または組成物のうちのいずれか 1 つの別の態様において、免疫抑制薬は、抗原のプロセッシングを妨害するものではない。提供される方法または組成物のうちのいずれか 1 つのさらなる態様において、免疫抑制薬は、アポトーシス性のシグナル伝達分子ではない。提供される方法または組成物のうちのいずれか 1 つの別の態様において、免疫抑制薬は、リン脂質ではない。

【0077】

免疫抑制薬として、これらに限定されないが、以下が挙げられる：mTOR インヒビター、例えばラパマイシンまたはラパマイシンアナログ（すなわち、ラパログ）；TGF- β シグナル伝達剤；TGF- β 受容体アゴニスト；ヒストンデアセチラーゼインヒビター、例えばトリコスタチン A；副腎皮質ステロイド；ミトコンドリアの機能のインヒビター、例えばロテノン；P38 インヒビター；NF- κ B インヒビター、例えば 6Bio、デキサメタゾン、TCPA-1、IKK V11；アデノシン受容体アゴニスト；プロスタグランジン E2 アゴニスト（PGE2）、例えばミソプロストール；ホスホジエステラーゼインヒビター、例えばホスホジエステラーゼ 4 インヒビター（PDE4）、例えばロリブラム；プロテアソームインヒビター；キナーゼインヒビターなど。「ラパログ」とは、本明細書において用いられる場合、ラパマイシン（シロリムス）に構造的に関連する分子（アナログ）を指す。ラパログの例として、限定することなく、テムシロリムス（CCI-779）、エベロリムス（RAD001）、リダフォロリムス（AP-23573）、およびゾタロリムス（ABT-578）が挙げられる。ラパログのさらなる例は、例えば WO 公開 WO 1998/002441 および米国特許第 8,455,510 号において見出すことができ、それらのラパログは、その全体において本明細書において参考として援用される。さらなる免疫抑制薬は、当業者には公知であり、本発明は、このことに関して限定されない。

10

20

【0078】

態様において、合成ナノキャリアにカップリングされるとき、免疫抑制薬は、合成ナノキャリアの構造を構成する材料に追加される要素である。例えば、合成ナノキャリアが 1 以上のポリマーから構成される 1 つのかかる態様において、免疫抑制薬は、1 以上のポリマーに追加される、およびそれにカップリングされる化合物である。別の例として、合成ナノキャリアが 1 以上の脂質から構成される 1 つのかかる態様において、免疫抑制薬は、1 以上の脂質に再度追加される、およびそれにカップリングされる薬剤である。

30

【0079】

「オートファジーを増大させること」または同種のものは、対照と比べて対象におけるオートファジーのレベルを増大させることを意味する。いくつかの態様において、オートファジーは、対照と比べて増大する、例として、少なくとも 20 ~ 40 %、より好ましくは少なくとも 50 ~ 75 %、および最も好ましくは 80 % 超増大する。好ましくは、増大は、少なくとも 2 倍である。いくつかの態様において、対照は、以前の期間（例として、診断前または治療前）における同じ対象からのオートファジー活性（例として、肝臓からの）である。いくつかの態様において、対照オートファジーレベルは、同じオートファジー関連疾患または障害を有する未処置の対象からものである。いくつかの態様において、対照は、同じオートファジー関連疾患または障害を有する未処置の対象の集団中のオートファジーの平均レベルである。

40

【0080】

いくつかの態様において、オートファジーを増大させることは、オートファジーの 1 以上のマーカーのレベルをモジュレートすることを含む。いくつかの態様において、マーカーは、対照と比べて、少なくとも 20 ~ 40 %、より好ましくは少なくとも 50 ~ 75 %、および最も好ましくは 80 % 超増大または減少する。好ましくは、増大または減少は、少なくとも 2 倍である。「オートファジーのマーカー」は、対象における（例として、対象の肝臓または CNS における）オートファジーを通常に示すものである。それらは、対象からの細胞、組織または体液中など、とりわけ、肝臓生検から、または、対象の血清または血漿または脳脊髄中の当業者に知られている方法で決定され得る。オートファジーの

50

マーカーは、例えば、LC3II、p26、ATG7、ベクリン1、LAMP-2、およびATG5を含む。

【0081】

「負荷量」は、合成ナノキャリアにカップリングされるとき、全合成ナノキャリア中の材料の総乾燥処方重量に基づく合成ナノキャリアにカップリングされた免疫抑制薬の量（重量/重量）である。一般に、かかる負荷量は、合成ナノキャリアの集合全体にわたる平均として計算される。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つの一態様において、負荷量は、合成ナノキャリア全体の平均で、0.1%～50%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つの別の態様において、合成ナノキャリアにわたる平均の負荷量は4%、5%、6%、7%、8%または9%および40%の間または4%、5%、6%、7%、8%または9%および30%の間である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つの別の態様において、合成ナノキャリアにわたる平均の負荷量は10%～40%または10%～30%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つの別の態様において、負荷量は、0.1%～20%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのさらなる態様において、負荷量は、0.1%～10%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのなおさらなる態様において、負荷量は、1%～10%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのなおさらなる態様において、負荷量は、7%～20%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのさらに別の態様において、負荷量は、合成ナノキャリアの集合全体の平均で、少なくとも0.1%、少なくとも0.2%、少なくとも0.3%、少なくとも0.4%、少なくとも0.5%、少なくとも0.6%、少なくとも0.7%、少なくとも0.8%、少なくとも0.9%、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少なくとも5%、少なくとも6%、少なくとも7%、少なくとも8%、少なくとも9%、少なくとも10%、少なくとも11%、少なくとも12%、少なくとも13%、少なくとも14%、少なくとも15%、少なくとも16%、少なくとも17%、少なくとも18%、少なくとも19%、少なくとも20%、少なくとも21%、少なくとも22%、少なくとも23%、少なくとも24%、少なくとも25%、少なくとも26%、少なくとも27%、少なくとも28%、少なくとも29%、または少なくとも30%である。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのさらにさらなる態様において、負荷量は、合成ナノキャリアの集合全体の平均で、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、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%または30%である。上の態様のうちのいずれか1つのいくつかの態様において、負荷量は、合成ナノキャリアの集合全体の平均で、35%、30%または25%以下である。本明細書で提供される方法、組成物またはキットのうちのいずれか1つにおいて、ラパマイシンなどの免疫抑制薬の負荷量は、本明細書に提供されるいずれか1つであってもよい。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つの態様において、負荷量は、当該分野において知られているように計算される。

【0082】

いくつかの態様において、懸濁液中のナノキャリアの免疫抑制薬負荷量は、ナノキャリア質量による試験物品のHPLC分析により決定されるようなナノキャリアの免疫抑制薬含量を分割することにより計算される。総ポリマー含量は、乾燥ナノキャリア質量の重量測定収量によって、または薬局方の方法に従ってナノキャリア溶液総有機含量の決定によってのいずれかにより測定され、PVA含有量に対して補正される。

【0083】

「合成ナノキャリアの最大寸法」とは、合成ナノキャリアの任意の軸に沿って測定されるナノキャリアの最大の寸法を意味する。「合成ナノキャリアの最小寸法」とは、合成ナノキャリアの任意の軸に沿って測定される合成ナノキャリアの最小の寸法を意味する。例えば、球体の合成ナノキャリアについては、合成ナノキャリアの最大および最小寸法は、

実質的に同一であり、その直径のサイズであろう。同様に、立方体状の合成ナノキャリアについて、合成ナノキャリアの最小寸法は、その高さ、幅または長さのうちの最小のものであり、一方、合成ナノキャリアの最大寸法は、その高さ、幅または長さのうちの最大のものであろう。一態様において、試料中の合成ナノキャリアの合計数に基づいて、試料中の合成ナノキャリアのうちの少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%の最小寸法が、100 nmに等しいかまたはこれより大きい。一態様において、試料中の合成ナノキャリアの合計数に基づいて、試料中の合成ナノキャリアのうちの少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%の最大寸法が、5 μmに等しいかまたはこれより小さい。好ましくは、試料中の合成ナノキャリアの合計数に基づいて、試料中の合成ナノキャリアのうちの少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%の最小寸法が、110 nmより大きく、より好ましくは120 nmより大きく、より好ましくは130 nmより大きく、より好ましくは150 nmよりなお大きい。発明的な合成ナノキャリアの最大寸法と最小寸法とのアスペクト比は、態様に依存して変化し得る。例えば、合成ナノキャリアの最大寸法の最小寸法に対するアスペクト比は、1:1~1,000,000:1、好ましくは1:1~100,000:1、より好ましくは1:1~10,000:1、より好ましくは1:1~1000:1、なおより好ましくは1:1~100:1、さらにより好ましくは1:1~10:1で変化し得る。

【0084】

好ましくは、試料中の合成ナノキャリアの合計数に基づいて、試料中の合成ナノキャリアのうちの少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%の最大寸法は、3 μmに等しいかまたはこれより小さく、より好ましくは2 μmに等しいかまたはこれより小さく、より好ましくは1 μmに等しいかまたはこれより小さく、より好ましくは800 nmに等しいかまたはこれより小さく、より好ましくは600 nmに等しいかまたはこれより小さく、より好ましくはなお500 nmに等しいかまたはこれより小さい。好ましい態様において、試料中の合成ナノキャリアの合計数に基づいて、試料中の合成ナノキャリアのうちの少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%の最小寸法は、100 nmと等しいかまたはこれより大きく、より好ましくは120 nmと等しいかまたはこれより大きく、より好ましくは130 nmと等しいかまたはこれより大きく、より好ましくは140 nmと等しいかまたはこれより大きく、より好ましくは150 nmとなお等しいかまたはこれより大きい。合成ナノキャリアの寸法（例えば直径）の測定値は、液体（通常は水性）の媒質中に合成ナノキャリアを懸濁し、動的光散乱（DLS）を用いる（例えばBrookhaven ZetaPALS装置を用いる）ことにより得ることができる。例えば、合成ナノキャリアの懸濁液を、水性バッファから精製水中に希釈して、約0.01~0.1 mg/mLの最終的な合成ナノキャリア懸濁液濃度を達成することができる。希釈された懸濁液は、DLS分析のための好適なキュベットの内部で直接調製しても、これに移してもよい。キュベットを、次いで、DLS中に置き、制御された温度に平衡化させ、次いで、媒質の粘性および試料の屈折率についての適切なインプットに基づいて、安定かつ再現可能な分布を得るために十分な時間にわたりスキャンすることができる。有効直径、または分布の平均を、次いで報告することができる。合成ナノキャリアの「寸法」または「サイズ」または「直径」は、いくつかの態様において、動的光散乱を用いて得られる、粒子サイズ分布の平均を意味する。

【0085】

「神経変性疾患」または「神経変性障害」（または「CNS疾患」または「CNS障害」）は、一般に、運動ニューロンの喪失または破壊によって引き起こされる疾患または障害を指す。神経変性疾患は、これらに限定されないが、アルツハイマー病およびその前兆である軽度認知障害（MCI）、パーキンソン病（パーキンソン病認知症を含む）、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、多発性硬化症、副腎白質ジストロフィー、AIDS認知症合併症、アレキサンダー病、アルパーズ疾患、毛細血管拡張性運動失調症、バッテン病、牛海綿状脳症、カナバン病、脳アミロイドアンギオパチー、小脳性運動失

調症、コケイン症候群、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルト・ヤコブ病、広汎性びまん性硬化症 (diffuse myelinoclasti sclerosis)、致死性家族性不眠症、ファチオ・ロンド病、フリートライヒ運動失調症、前頭側頭型認知症または前頭側頭葉変性症、遺伝性痙性対麻痺、ケネディ病、クラッペ病、レビー小体型認知症、ライム病、マチャド・ジョセフ病、運動ニューロン疾患、多系統萎縮症、有棘赤血球性舞蹈病、ニーマン・ピック病、ペリツェウス・メルツバッハー病、ピック病、その若年性の形態を含む原発性側索硬化症、進行性延髄麻痺、進行性核上性麻痺、その小児型を含むレフサム病、サンドホフ病、シルダー病、脊髄性筋萎縮症、脊髄小脳失調症、スティール・リチャードソン・オルスゼフスキー病、脊髄亜急性連合変性症、運動神経細胞生存脊髄性筋萎縮症、脊髄癆、テイ・サックス病、中毒性脳症、伝達性海綿状脳症、血管性認知症、およびX連鎖性脊髄性筋萎縮症を含む。いくつかの態様において、疾患は、特発性または原因不明の疾患、例えば：シヌクレイノパチー、プログラニューリノパチー (progranulinopathy)、タウオパチー、アミロイド疾患、プリオン疾患、タンパク質凝集疾患、および運動障害である。

10

【0086】

「NF- κ B 媒介性の炎症」は、核因子- κ B (NF- κ B) により調節される免疫および/または炎症反応を指す。NF- κ B は、NF- κ B1 (p50 と呼ばれる)、NF- κ B2 (p52 と呼ばれる)、RelA (p65 と呼ばれる)、RelB および c-Rel を含む少なくとも5つの構造的に関係があるメンバーから構成される誘導性転写因子のファミリーを表す。いくつかの態様において、NF- κ B の活性化は、2つの主要なシグナル伝達経路である、標準および非標準の (または代替の) 経路に關与する。標準的な NF- κ B 経路は、様々なサイトカイン受容体、パターン認識受容体 (PRR)、TNF 受容体 (TNFR) スーパーファミリーメンバー、T細胞受容体 (TCR) および B細胞受容体のリガンドを含む様々な刺激に応答する。標準的な NF- κ B は、先天性免疫細胞におけるサイトカイン産生の調節およびT細胞固有のメカニズムの両方を介して、CD4+ T細胞分化を調節する。非標準な NF- κ B 経路は、LT β R、BAFFR、CD40 および RANK などの TNFR スーパーファミリーメンバーのサブセットのリガンドを含む、特定の群の刺激に選択的に応答する。いくつかの態様において、NF- κ B 媒介性の炎症に関連する疾患および障害は、これらに限定されないが、リウマチ性関節炎、アテローム性動脈硬化、多発性硬化症、慢性炎症性脱髄性多発神経根神経炎、喘息、炎症性腸疾患、ヘリコバクター・ピロリ関連胃炎、および全身性炎症反応症候群を含む。本明細書に提供される方法または組成物のいずれか1つは、対象におけるこれらの疾患または障害のいずれか1つを処置または予防するために使用することができる。

20

30

【0087】

「薬学的に受入可能な賦形剤」または「薬学的に受入可能なキャリア」は、組成物を処方するために薬理的に活性な材料と一緒に用いられる、薬理的に不活性な材料を意味する。薬学的に受入可能な賦形剤は、当該分野において公知の多様な材料を含み、これは、多糖 (例えばグルコース、ラクトースなど)、抗菌剤などの保存剤、再構成補助剤、着色剤、食塩水 (例えばリン酸緩衝化食塩水)、およびバッファーを含むが、これらに限定されない。本明細書に提供される組成物のいずれか1つは、薬学的に許容し得る賦形剤またはキャリアを包み得る。

40

【0088】

「寛容原性の免疫効果を促進すること」または同種のものは、寛容性が促進されるように、免疫応答のレベルを減少または増大させることなどの、モジュレートすることを意味する。免疫応答は、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与なしの免疫応答などの対照と比べ得る。いくつかの態様において、免疫応答は対照と比べて減少する、例として、少なくとも20~40%、より好ましくは少なくとも50~75%、および最も好ましくは80%超減少する。好ましくは、減少は、少なくとも2倍である。理論によって拘束されることは望まないが、免疫応答は、MHCクラスIIまたはCD80またはCD86発現の下方調節、またはPD-1またはPD-L1発現の上方調節により有益に減少し得る。いくつかの場合において、免疫応答は、CD⁺T細胞の減少により、またはこれらに限定

50

されないが C D 4 C D 2 5 制御性 T 細胞、F o x p 3 + T 細胞、または T R 1 T 細胞を含む、制御性 T 細胞の数の増大により、有益に減少し得る。

【 0 0 8 9 】

「プロトコル」は、対象への 1 以上の物質のいずれかの投薬レジメンを指す。投薬レジメンは、投与の量、頻度、速度、割合および / または様式を含み得る。いくつかの態様において、かかるプロトコルは、1 以上の試験対象への本発明の 1 以上の組成物を投与するために使用されてもよい。これらの試験対象における治療的 / 予防的応答は、次いで、プロトコルが生ずる所望される応答に有効であったか否かを決定するために査定され得る。プロトコルが所望される効果を有したか否かを、本明細書に提供されるか、さもなければ当該技術分野において知られているいずれかの方法を使用して決定され得る。例えば、細胞の集団は、本明細書に提供される組成物が特定の酵素、バイオマーカー等々が生成、活性化などをされたか否かを決定するために、特定のプロトコルに従って投与された対象から得てもよい。バイオマーカーの存在および / または数を検出するための有用な方法は、これらに限定されないが、フローサイトメトリー法 (例として、F A C S) および免疫組織化学法を含む。あるバイオマーカーの特定の染色のための抗体および他の結合剤は、市販されている。典型的には、かかるキットは、F A C S をベースの検出、細胞の不均一な集団からの所望される細胞集団の分離および / または定量を可能にする複数の抗原のための染色試薬を含む。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つは、プロトコルを決定するステップを含むことができ、および / または投与は、本明細書に提供されるとおりの有益な結果または所望の有益な結果のいずれか 1 つを有すると決定されたプロトコルに基づいて行われる。

10

20

【 0 0 9 0 】

「対象を提供すること」は、臨床医が対象と接触し、本明細書に提供される組成物を対象に投与するか、または本明細書で提供される方法を実施するいずれかの作用または一連の作用である。作用または一連の作用は、直接的にまたは間接的のいずれかで行われてもよい。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つの一態様において、方法は、対象を提供することをさらに含む。好ましくは、対象は、本明細書に提供される応答 / 結果 / 効果のいずれか 1 以上を必要するものである。

【 0 0 9 1 】

「炎症を低減させること」または同種のものは、対照と比べて、炎症細胞 (白血球、例えば好中球) の数および / または 1 以上の炎症性マーカーのレベルを減少させることを意味する。いくつかの態様において、低減は、対照と比べて、少なくとも 2 0 ~ 4 0 %、より好ましくは少なくとも 5 0 ~ 7 5 %、および最も好ましくは 8 0 % 超である。好ましくは、減少は、少なくとも 2 倍である。いくつかの態様において、対照は、免疫抑制薬を含む投与に先立ち、および N F - k B 媒介性の炎症の発症後、以前の期間における、同じ対象からの試料である。いくつかの態様において、対照試料は、免疫抑制薬を含むナノキャリアの投与はされないが、同じ N F - k B 媒介性の炎症を有する対象からである。「炎症性マーカー」は、大抵、対象における炎症を示すものである。炎症性マーカーは、F G F - 2 1、腫瘍壊死因子 - アルファ (T N F - α)、インターロイキン - 1 β (I L - 1 β)、プロスタグランジン E 2 (P G E 2)、マトリックスメタロペプチダーゼ 9 (M M P - 9)、T I M P メタロプロテイナーゼインヒビター 1 (T I M P - 1)、インターロイキン 1 7 (I L - 1 7)、C - 反応性タンパク質、および赤血球沈降速度 (E S R) 等を含み得る。特定の臓器部位における低減した炎症は、X 線、M R I、または C T スキャンによって確認され得る。炎症性マーカーは、対象の血清または血漿などの対象からの細胞、組織または体液などにおいて、当業者に知られている方法によって決定され得る。

30

40

【 0 0 9 2 】

「繰り返し用量」または「繰り返し投与」または同種のものは、同じ材料のより早い用量または投与に続いて対象に投与される少なくとも 1 回のさらなる用量または投与を意味する。例えば同じ材料の前の用量の後の、免疫抑制薬を含むナノキャリアの繰り返し用量。材料は同じであってもよく、一方、繰り返し用量中の材料の量は、異なってもよい

50

。繰り返し用量は、本明細書に提供されるとおりに投与されてもよい。繰り返し投与は、それが対象に有利な効果をもたらす場合、効果的であるとみなされる。好ましくは、効果的な繰り返し投与は、オートファジーの増大、免疫応答の減少、免疫応答の増大、寛容原性の表現型の促進、および/またはNF- κ B媒介性の炎症の減少などの、本明細書に提供される応答/結果/効果のいずれか1以上をもたらす。本明細書に提供される方法のいずれか1つは、繰り返し投薬のステップを含むことができる。

【0093】

「対象」は、ヒトおよび霊長類などの温血哺乳動物；鳥類；ネコ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ウマおよびブタなどの飼育された家庭または農場の動物；マウス、ラットおよびモルモットなどの研究動物；魚類；爬虫類；動物園および野生の動物などを含む動物を意味する。本明細書に提供される、方法、組成物およびキットのいずれか1つにおいて、対象は、ヒトである。

10

【0094】

「合成ナノキャリア」は、天然において見出されない分散した物体であって、サイズが5マイクロンより小さいかまたはこれと等しい少なくとも1つの寸法を有するものを意味する。合成ナノキャリアは、これらに限定されないが、球状、立方体状、錐体状、長方形、円柱状、環状体状等を含む、様々な種々の形状であってもよい。合成ナノキャリアは、1以上の表面を含む。

【0095】

合成ナノキャリアは、これらに限定されないが、1つまたは複数の脂質ベースのナノ粒子（本明細書においてまた、脂質ナノ粒子、すなわち、それらの構造を構成する材料のうちの大部分が脂質であるナノ粒子としても言及される）、ポリマー性ナノ粒子、金属ナノ粒子、界面活性剤ベースのエマルジョン、デンドリマー、バッキーボール、ナノワイヤ、ウイルス様粒子（すなわち、ウイルスの構造タンパク質から主に構成されるが、感染性ではないか、低い感染性を有する粒子）、ペプチドまたはタンパク質ベースの粒子（本明細書においてまた、タンパク質粒子、すなわち、それらの構造を構成する材料のうちの大部分がペプチドまたはタンパク質である粒子としても言及される）（アルブミンナノ粒子など）、および/または脂質-ポリマーナノ粒子などのナノ材料の組み合わせを用いて開発されるナノ粒子であってもよい。合成ナノキャリアは、球状、立方体状、錐体状、長方形、円柱状、環状体状などを含むがこれらに限定されない、多様な異なる形状であってもよい。合成ナノキャリアの例は、以下を含む：（1）Grefらに対する米国特許5,543,158において開示される生分解性ナノ粒子、（2）Saltzmanらに対する公開された米国特許出願20060002852のポリマー性ナノ粒子、（3）DeSimoneらに対する公開された米国特許出願20090028910のリソグラフィーにより構築されたナノ粒子、（4）von Andrianらに対するWO 2009/051837の開示、（5）Penadesらに対する公開された米国特許出願2008/0145441において開示されるナノ粒子、（6）P. Paolicelli et al., 「Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles」 *Nanomedicine*. 5(6):843-853 (2010)において開示されるナノ沈殿された（nanoprecipitated）ナノ粒子、および（7）Lookら、「Nanogel-based delivery of mycophenolic acid ameliorates systemic lupus erythematosus in mice」 *J. Clinical Investigation* 123(4):1741-1749 (2013)のもの。

20

30

40

【0096】

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、約100nmと等しいかまたはこれより小さい、好ましくは100nmと等しいかまたはこれより小さい最小寸法を有し、補体を活性化するヒドロキシル基を有する表面を含まないか、あるいは、補体を活性化するヒドロキシル基ではない部分から本質的になる表面を含んでいてもよい。態様において、約100nmと等しいかまたはこれより小さい、好ましくは100nmと等しいかまたはこれより小さい最小寸法を有する、合成ナノキャリアは、補体を実質的に活性化する表面を含まないか、あるいは、補体を実質的に活性化しない部分から本質的になる表面を含む。

50

より好ましい態様において、約 100 nm と等しいかまたはこれより小さい、好ましくは 100 nm と等しいかまたはこれより小さい最小寸法を有する、本発明による合成ナノキャリアは、補体を活性化する表面を含まないか、あるいは、補体を活性化しない部分から本質的になる表面を含む。態様において、合成ナノキャリアは、ウイルス様粒子を除外する。態様において、合成ナノキャリアは、1 : 1、1 : 1.2、1 : 1.5、1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 7 と等しいかまたはこれよりより大きい、または 1 : 10 より大きいアスペクト比を有していてもよい。

【0097】

「治療的高分子」は、対象に投与してもよく、かつ治療効果を有する、いずれかのタンパク質、炭水化物、脂質または核酸を指す。いくつかの態様において、治療的巨分子は、治療的ポリヌクレオチドまたは治療的タンパク質であってもよい。

10

【0098】

「治療的ポリヌクレオチド」は、対象に投与されてもよく、かつ治療効果を有するいずれかのポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドベースの治療を意味する。かかる治療は、遺伝子サイレンシングを含む。そのような治療の例は、当技術分野で知られており、これらに限定されないが、裸の RNA (メッセンジャー RNA、修飾されたメッセンジャー RNA、および RNAi の形態を含む) を含む。

【0099】

「治療的タンパク質」は、対象に投与されてもよく、かつ治療効果を有するいずれかのタンパク質またはタンパク質ベースの治療を意味する。かかる治療は、タンパク質置換療法およびタンパク質補充療法を含む。かかる治療はまた、外因性 (exogenous) または外来性 (foreign) タンパク質の投与、抗体療法なども含む。治療的タンパク質は、これらに限定されないが、酵素、酵素補因子、ホルモン、血液凝固因子、サイトカイン、成長因子、モノクローナル抗体、抗体-薬物複合体、およびポリクローナル抗体を含む。

20

【0100】

「処置すること」は、対象が投与に起因して得られる利益を有し得ること期待した、1 以上の治療の投与を指す。処置することは、対象を処置するために、別の臨床医または対象自体を含む別の対象を誘導または指示することによるなど、直接的または間接的であってもよい。

【0101】

「ウイルスベクター」は、導入遺伝子または核酸材料が、本明細書に提供されるとおりに発現され得る、治療的タンパク質などの治療薬をコードするものなどの導入遺伝子または核酸材料を含み、かつ送達するように適合されている、カプシドおよび/またはコートタンパク質などのウイルスの構成要素を含むベクター構築物を意味する。

30

【0102】

C. 方法および関連する組成物

本明細書に提供されるのは、例えば、オートファジーを誘導するまたは増大させる、および/または寛容原性の表現型を促進する、および/または NF- κ B 媒介性の炎症を低減させる、および/または関連する疾患、障害および状態を処置および/または予防するのに有用な、方法および関連する組成物である。方法および組成物は、疾患特異的な処置などの別の処置を必ずしも必要としない治療を有利に提供するが、疾患特異的な処置などの別の処置を対象に提供してもよい。本明細書に提供される方法のいずれか 1 つにおいて、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与は、本明細書に提供される疾患、障害または状態のいずれか 1 つの発症前または悪化もしくは進行前であり得る。よって、投与は、疾患、障害または状態のための 1 以上の他の治療による処置の前の、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアによる前処置であってもよい。

40

【0103】

合成ナノキャリア

本発明により、多様な合成ナノキャリアを用いることができる。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、球または球状体である。いくつかの態様において、合成ナノキ

50

キャリアは、扁平または板の形状である。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、立方体または立方体状である。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、卵円または楕円である。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、円柱、円錐、または錐体である。

【0104】

いくつかの態様においては、各々の合成ナノキャリアが類似の特性を有するように、サイズまたは形状に関して比較的均一な合成ナノキャリアの集合を用いることが望ましい。例えば、合成ナノキャリアの合計数に基づいて、提供される組成物または方法のうちのいずれか1つの合成ナノキャリアのうちの少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%は、合成ナノキャリアの平均直径または平均寸法の5%、10%、または20%以内に該当する最小寸法または最大寸法を有していてもよい。

10

【0105】

合成ナノキャリアは、固体または中空であってもよく、1つ以上の層を含んでもよい。いくつかの態様において、各々の層は、他の層と比較してユニークな組成物およびユニークな特性を有する。ほんの一例を挙げると、合成ナノキャリアは、コア/シェル構造を有していてもよく、ここで、コアは、1つの層（例えばポリマー性のコア）であり、シェルは、第2の層（例えば脂質二重層または単層）である。合成ナノキャリアは、複数の異なる層を含んでもよい。

【0106】

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、任意に、1つ以上の脂質を含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、リポソームを含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、脂質二重層を含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、脂質単層を含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、ミセルを含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、脂質層（例えば、脂質二重層、脂質単層など）により囲まれたポリマー性マトリックスを含むコアを含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、脂質層（例えば、脂質二重層、脂質単層など）により囲まれた非ポリマー性コア（例えば、金属粒子、量子ドット、セラミック粒子、骨粒子、ウイルス粒子、タンパク質、核酸、炭水化物など）を含んでもよい。

20

【0107】

他の態様において、合成ナノキャリアは、金属粒子、量子ドット、セラミック粒子などを含んでもよい。いくつかの態様において、非ポリマー性合成ナノキャリアは、非ポリマー性構成成分の凝集物、例えば金属原子（例えば金原子）の凝集物である。

30

【0108】

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、任意に、1つ以上の両親媒性の実体を含んでもよい。いくつかの態様において、両親媒性の実体は、増大した安定性、改善された均一性、または増大した粘性を有する合成ナノキャリアの生成を促進し得る。いくつかの態様において、両親媒性の実体は、脂質膜（例えば、脂質二重層、脂質単層など）の内部表面に結合していてもよい。当該分野において公知の多くの両親媒性の実体が、本発明による合成ナノキャリアを作製するために好適である。かかる両親媒性の実体として、これらに限定されないが、以下が挙げられる：ホスホグリセリド；ホスファチジルコリン；ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）；ジオレイルホスファチジルエタノールアミン（DOPC）；ジオレイルオキシプロピルトリエチルアンモニウム（DOTMA）；ジオレイルホスファチジルコリン；コレステロール；コレステロールエステル；ジアシルグリセロール；コハク酸ジアシルグリセロール；ジホスファチジルグリセロール（DPPG）；ヘキサデカノール；ポリエチレングリコール（PEG）などの脂肪アルコール；ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル；パルミチン酸またはオレイン酸などの界面活性脂肪酸；脂肪酸；脂肪酸モノグリセリド；脂肪酸ジグリセリド；脂肪酸アミド；ソルビタントリオレート（Span（登録商標）85）グリコラート；ソルビタンモノラウレート（Span（登録商標）20）；ポリソルベート20（Tween（登録商標）20）；ポリ

40

50

ソルベート 60 (Tween (登録商標) 60) ; ポリソルベート 65 (Tween (登録商標) 65) ; ポリソルベート 80 (Tween (登録商標) 80) ; ポリソルベート 85 (Tween (登録商標) 85) ; ポリオキシエチレンモノステアレート ; サーファクチン ; ポロキシマー (poloxomer) ; ソルビタントリオレエートなどのソルビタン脂肪酸エステル ; レシチン ; リゾレシチン ; ホスファチジルセリン ; ホスファチジイルノシトール ; スフィンゴミエリン ; ホスファチジルエタノールアミン (セファリン) ; カルジオリピン ; ホスファチジン酸 ; セレブロシド ; ジセチルホスファート ; ジパルミトイルホスファチジルグリセロール ; ステアリルアミン ; ドデシルアミン ; ヘキサデシル-アミン ; アセチルパルミテート ; グリセロールリシノレート ; ヘキサデシルステアレート ; イソプロピルミリステート ; チロキサポール ; ポリ (エチレングリコール) 5000 - ホスファチジルエタノールアミン ; ポリ (エチレングリコール) 400 - モノステアレート ; リン脂質 ; 高い界面活性特性を有する合成および / または天然の洗剤 ; デオキシコレート ; シクロデキストリン ; カオトロピックな塩 ; イオン対形成剤 ; ならびにこれらの組み合わせ。両親媒性の実体の構成成分は、異なる両親媒性の実体の混合物であってもよい。当業者は、これが、包括的なものではなく、例示的な界面活性を有する物質のリストであることを認識するであろう。本発明により用いられるべき合成ナノキャリアの生成において、任意の両親媒性の実体を用いることができる。

10

【0109】

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、任意に、1つ以上の炭水化物を含んでもよい。炭水化物は、天然であっても合成であってもよい。炭水化物は、誘導体化された天然炭水化物であってもよい。ある態様において、炭水化物は、これらに限定されないが、グルコース、フルクトース、ガラクトース、リボース、ラクトース、スクロース、マルトース、トレハロース、セロビオース、マンノース、キシロース、アラビノース、グルクロン酸、ガラクツロン酸、マンヌロン酸、グルコサミン、ガラクトサミン、およびノイラミン酸を含む、単糖または二糖を含む。ある態様において、炭水化物は、これらに限定されないが、以下を含む多糖である：プルラン、セルロース、微結晶性セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC)、ヒドロキシセルロース (HC)、メチルセルロース (MC)、デキストラン、シクロデキストラン、グリコーゲン、ヒドロキシエチルデンプン、カラギーナン、グリコン (glycon)、アミロース、キトサン、N, O - カルボキシメチルキトサン、アルギンおよびアルギン酸、デンプン、キチン、イヌリン、コンニャク、グルコマンナン、プスツラン、ヘパリン、ヒアルロン酸、カードラン、およびキサンタン。態様において、合成ナノキャリアは、多糖などの炭水化物を含まない (または特にこれを除外する)。ある態様において、炭水化物は、これらに限定されないが、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトールおよびラクチトールを含む糖アルコールなどの炭水化物誘導体を含んでもよい。

20

30

【0110】

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、1つ以上のポリマーを含んでもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、非メトキシ末端化されたプルロニックポリマーである1つ以上のポリマーを含む。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを構成するポリマーのうちの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、または99% (重量/重量) は、非メトキシ末端化されたプルロニックポリマーである。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを構成するポリマーの全ては、非メトキシ末端化されたプルロニックポリマーである。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、非メトキシ末端化されたポリマーである1つ以上のポリマーを含む。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを構成するポリマーのうちの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、または99% (重量/重量) は、非メトキシ末端ポリマーである。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを

40

50

構成するポリマーの全ては、非メトキシ末端化されたポリマーである。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、プルロニックポリマーを含まない1つ以上のポリマーを含む。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを構成するポリマーのうちの少なくとも1%、2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、または99%（重量/重量）は、プルロニックポリマーを含まない。いくつかの態様において、合成ナノキャリアを構成するポリマーの全ては、プルロニックポリマーを含まない。いくつかの態様において、かかるポリマーは、コーティング層（例えば、リポソーム、脂質単層、ミセルなど）により囲まれていてもよい。いくつかの態様において、合成ナノキャリアの元素は、ポリマーに結合していてもよい。

10

【0111】

免疫抑制薬は、多数の方法のうちのいずれかにより、合成ナノキャリアにカップリングさせることができる。一般に、結合は、免疫抑制薬と合成ナノキャリアとの間の結合の結果であり得る。この結合は、免疫抑制薬が、合成ナノキャリアの表面に結合すること、および/または合成ナノキャリア中に含まれる（カプセル化される）ことをもたらし得る。提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様においては、しかし、免疫抑制薬は、合成ナノキャリアにより、合成ナノキャリアへの結合よりもむしろ合成ナノキャリアの構造の結果として、カプセル化される。提供される方法または組成物のいずれか1つの好ましい態様において、合成ナノキャリアは、本明細書において提供されるようなポリマーを含み、免疫抑制薬は当該ポリマーにカップリングしている。

20

【0112】

カップリングが、免疫抑制薬と合成ナノキャリアとの間の結合の結果として起こる場合、カップリングは、カップリング部分を介して起こり得る。カップリング部分は、それを通して免疫抑制薬が合成ナノキャリアに結合する、任意の部分であってよい。かかる部分として、アミド結合またはエステル結合などの共有結合、ならびに免疫抑制薬を合成ナノキャリアに結合させる（共有結合によりまたは非共有結合により）別の分子が挙げられる。かかる分子は、リンカーまたはポリマーまたはその単位を含む。例えば、カップリング部分は、免疫抑制薬が静電的にそれに結合する、荷電されたポリマーを含んでもよい。別の例として、カップリング部分は、それが共有結合する荷電されたポリマーを含んでもよい。

30

【0113】

提供される方法または組成物のいずれか1つの好ましい態様において、合成ナノキャリアは、本明細書において提供されるようなポリマーを含む。これらの合成ナノキャリアは、完全にポリマー性であっても、ポリマーと他の材料との混合物であってもよい。

【0114】

提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、合成ナノキャリアのポリマーは、会合してポリマー性マトリックスを形成する。提供される方法または組成物のいずれか1つのこれらの態様のうちのいくつかにおいて、免疫抑制薬などの成分は、ポリマー性マトリックスの1つ以上のポリマーと共有結合により会合していてもよい。提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、共有結合による会合は、リンカーにより媒介される。提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、構成成分は、ポリマー性マトリックスの1つ以上のポリマーと、非共有結合的に会合していてもよい。例えば、提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、構成成分は、ポリマー性マトリックス中にカプセル化されるか、ポリマー性マトリックスにより囲まれるか、および/またはポリマー性マトリックス全体に分散していてもよい。あるいはまたは加えて、構成成分は、疎水性相互作用、電荷相互作用、ファン・デル・ワールス力などにより、ポリマー性マトリックスの1つ以上のポリマーと会合していてもよい。ポリマー性マトリックスをそれから形成させるための多様なポリマーおよび方法は、従来から知られている。

40

【0115】

50

ポリマーは、天然または非天然（合成）のポリマーであってよい。ポリマーは、ホモポリマーであっても、2つ以上のモノマーを含むコポリマーであってもよい。配列に関して、コポリマーは、ランダムであっても、ブロックであっても、またはランダム配列とブロック配列との組み合わせであってもよい。典型的には、本発明によるポリマーは、有機ポリマーである。

【0116】

いくつかの態様において、ポリマーは、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアミド、またはポリエーテル、またはこれらの単位を含む。他の態様において、ポリマーは、ポリ（エチレングリコール）（PEG）、ポリプロピレングリコール、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸-コ-グリコール酸）、またはポリカプロラクトン、またはこれらの単位を含む。いくつかの態様において、ポリマーは、生分解性であることが好ましい。したがって、これらの態様において、ポリマーが、ポリエーテル、例えばポリ（エチレングリコール）またはポリプロピレングリコールまたはこれらの単位を含む場合、ポリマーが生分解性となるように、ポリマーがポリエーテルと生分解性ポリマーとのブロックコポリマーを含むことが好ましい。他の態様において、ポリマーは、ポリエーテルまたはその単位、例えばポリ（エチレングリコール）またはポリプロピレングリコールまたはこれらの単位のみを含むのではない。

10

【0117】

本発明における使用のために有用なポリマーの他の例として、これらに限定されないが、以下が挙げられる：ポリエチレン、ポリカーボネート（例えばポリ（1,3-ジオキサン-2オン））、ポリ無水物（例えばポリ（セバシン酸無水物））、ポリプロピルフマレート（fumarate）、ポリアミド（例えばポリカプロラクタム）、ポリアセタール、ポリエーテル、ポリエステル（例えば、ポリラクチド、ポリグリコリド、ポリラクチド-コ-グリコリド、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシ酸（例えばポリ（ β -ヒドロキシアルカノエート））、ポリ（オルトエステル）、ポリシアノアクリレート、ポリビニルアルコール、ポリウレタン、ポリホスファゼン、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリウレア、ポリスチレン、およびポリアミン、ポリリジン、ポリリジン-PEGコポリマー、およびポリ（エチレンイミン）、ポリ（エチレンイミン）-PEGコポリマー。

20

【0118】

いくつかの態様において、本発明によるポリマーは、米国食品医薬品局（FDA）により21CFR, § 177.2600下においてヒトにおける使用について承認されているポリマーを含み、これは、これらに限定されないが、ポリエステル（例えば、ポリ乳酸、ポリ（乳酸-コ-グリコール酸）、ポリカプロラクトン、ポリバレロラクトン、ポリ（1,3-ジオキサン-2オン））；ポリ無水物（例えば、ポリ（セバシン酸無水物））；ポリエーテル（例えば、ポリエチレングリコール）；ポリウレタン；ポリメタクリレート；ポリアクリレート；およびポリシアノアクリレートを含む。

30

【0119】

いくつかの態様において、ポリマーは、親水性であってもよい。例えば、ポリマーは、アニオン性基（例えば、リン酸基、硫酸基、カルボン酸基）；カチオン性基（例えば、四級アミン基）；または極性基（例えば、ヒドロキシル基、チオール基、アミン基）を含んでもよい。いくつかの態様において、親水性ポリマー性マトリックスを含む合成ナノキャリアは、合成ナノキャリア中に親水性環境を生じる。いくつかの態様において、ポリマーは、疎水性であってもよい。いくつかの態様において、疎水性ポリマー性マトリックスを含む合成ナノキャリアは、合成ナノキャリア中に疎水性環境を生じる。ポリマーの親水性または疎水性の選択は、合成ナノキャリア中に組み込まれる材料の性質に対して影響を有し得る。

40

【0120】

いくつかの態様において、ポリマーは、1つ以上の部分および/または官能基により修飾されていてもよい。多様な部分または官能基を、本発明により用いることができる。いくつかの態様において、ポリマーは、ポリエチレングリコール（PEG）により、炭水化

50

物により、および／または多糖から誘導される非環式ポリアセタールにより修飾されていてもよい (Papisov, 2001, ACS Symposium Series, 786:301)。ある態様は、G refらに対する米国特許第5543158号、またはVon AndrianらによるWO公開WO2009/051837の一般的教示を用いて行うことができる。

【0121】

いくつかの態様において、ポリマーは、脂質または脂肪酸基により修飾されていてもよい。いくつかの態様において、脂肪酸基は、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリル酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、ベヘン酸、またはリグノセリン酸のうちの1つ以上であってよい。いくつかの態様において、脂肪酸基は、パルミトレイン酸、オレイン酸、バクセン酸、リノール酸、アルファ-リノール酸、ガンマ-リノール酸、アラキドン酸、ガドレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、またはエルカ酸のうちの1つ以上であってよい。

10

【0122】

いくつかの態様において、ポリマーは、以下を含むポリエステルであってよい：本明細書において集合的に「PLGA」として言及される乳酸およびグリコール酸の単位を含むコポリマー、例えばポリ(乳酸-コ-グリコール酸)およびポリ(ラクチド-コ-グリコリド)；ならびに本明細書において「PGA」として言及されるグリコール酸単位を含むホモポリマー、および本明細書において集合的に「PLA」として言及される乳酸単位を含むホモポリマー、例えばポリ-L-乳酸、ポリ-D-乳酸、ポリ-D, L-乳酸、ポリ-L-ラクチド、ポリ-D-ラクチドおよびポリ-D, L-ラクチド。いくつかの態様において、例示的なポリエステルとして、例えば、ポリヒドロキシ酸；PEGコポリマー、ならびにラクチドとグリコリドとのコポリマー(例えば、PLA-PEGコポリマー、PGA-PEGコポリマー、PLGA-PEGコポリマー、およびこれらの誘導体が挙げられる。いくつかの態様において、ポリエステルとして、例えば、ポリ(カプロラクトン)、ポリ(カプロラクトン)-PEGコポリマー、ポリ(L-ラクチド-コ-L-リジン)、ポリ(セリンエステル)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)、ポリ[α -(4-アミノブチル)-L-グリコール酸]、およびこれらの誘導体が挙げられる。

20

【0123】

いくつかの態様において、ポリマーは、PLGAであってよい。PLGAは、乳酸とグリコール酸との生体適合性かつ生分解性のコポリマーであり、PLGAの多様な形態が、乳酸：グリコール酸の比により特徴づけられる。乳酸は、L-乳酸、D-乳酸、またはD, L-乳酸であってよい。PLGAの分解速度は、乳酸：グリコール酸比を改変することにより調整することができる。いくつかの態様において、本発明により用いられるべきPLGAは、約85：15、約75：25、約60：40、約50：50、約40：60、約25：75、または約15：85の乳酸：グリコール酸比により特徴づけられる。

30

【0124】

いくつかの態様において、ポリマーは、1つ以上のアクリルポリマーであってよい。ある態様において、アクリルポリマーとして、例えば、以下が挙げられる：アクリル酸とメタクリル酸とのコポリマー、メチルメタクリレートコポリマー、エトキシエチルメタクリレート、シアノエチルメタクリレート、アミノアルキルメタクリレートコポリマー、ポリ(アクリル酸)、ポリ(メタクリル酸)、メタクリル酸アルキルアミドコポリマー、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(メタクリル酸無水物)、メチルメタクリレート、ポリメタクリレート、ポリ(メチルメタクリレート)コポリマー、ポリアクリルアミド、アミノアルキルメタクリレートコポリマー、グリシジルメタクリレートコポリマー、ポリシアノアクリレート、前述のポリマーのうちの1つ以上を含む組み合わせ。アクリルポリマーは、低い含有量の四級アンモニウム基を有するアクリル酸エステルとメタクリル酸エステルとの完全に重合されたコポリマーを含んでもよい。

40

【0125】

いくつかの態様において、ポリマーは、カチオン性ポリマーであってよい。一般的に、カチオン性ポリマーは、核酸の負に荷電した鎖を濃縮および／または保護することがで

50

きる。アミン含有ポリマー、例えばポリ(リジン)(Zauner et al., 1998, Adv. Drug Del. Rev., 30:97; およびKabanov et al., 1995, Bioconjugate Chem., 6:7)、ポリ(エチレンジアミン)(PEI; Boussif et al., 1995, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1995, 92:7297)、ならびにポリ(アミノアミン)デンドリマー(Kukowska-Latallo et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93:4897; Tang et al., 1996, Bioconjugate Chem., 7:703; およびHaensler et al., 1993, Bioconjugate Chem., 4:372)は、生理学的 pH において正に荷電し、核酸とイオン対を形成する。態様において、合成ナノキャリアは、カチオン性ポリマーを含まなくともよい(またはこれを除外してもよい)。

【0126】

10

いくつかの態様において、ポリマーは、カチオン性側鎖を有する分解性ポリエステルであってもよい(Putnam et al., 1999, Macromolecules, 32:3658; Barrera et al., 1993, J. Am. Chem. Soc., 115:11010; Kwon et al., 1989, Macromolecules, 22:3250; Lim et al., 1999, J. Am. Chem. Soc., 121:5633; およびZhou et al., 1990, Macromolecules, 23:3399)。これらのポリエステルの例として、ポリ(L-ラクチド-コ-L-リジン)(Barrera et al., 1993, J. Am. Chem. Soc., 115:11010)、ポリ(セリンエステル)(Zhou et al., 1990, Macromolecules, 23:3399)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)(Putnam et al., 1999, Macromolecules, 32:3658; およびLim et al., 1999, J. Am. Chem. Soc., 121:5633)、ならびにポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)(Putnam et al., 1999, Macromolecules, 32:3658; and Lim et al., 1999, J. Am. Chem. Soc., 121:5633)が挙げられる。

20

【0127】

これらのおよび他のポリマーの特性ならびにそれらを調製するための方法は、は、当該分野において周知である(例えば、米国特許6,123,727; 5,804,178; 5,770,417; 5,736,372; 5,716,404; 6,095,148; 5,837,752; 5,902,599; 5,696,175; 5,514,378; 5,512,600; 5,399,665; 5,019,379; 5,010,167; 4,806,621; 4,638,045; および4,946,929; Wang et al., 2001, J. Am. Chem. Soc., 123:9480; Lim et al., 2001, J. Am. Chem. Soc., 123:2460; Langer, 2000, Acc. Chem. Res., 33:94; Langer, 1999, J. Control. Release, 62:7; およびUhrich et al., 1999, Chem. Rev., 99:3181を参照)。より一般的には、特定の好適なポリマーを合成するための多様な方法は、Concise Encyclopedia of Polymer Science and Polymeric Amines and Ammonium Salts、Goethals編、Pergamon Press、1980年; Principles of Polymerization、Odian著、John Wiley & Sons、第4版、2004年; Contemporary Polymer Chemistry、Allcockら著、Prentice-Hall、1981年; Deming et al., 1997, Nature, 390:386において; ならびに、米国特許6,506,577、6,632,922、6,686,446および6,818,732において記載される。

30

【0128】

いくつかの態様において、ポリマーは、直鎖状または分枝状ポリマーであってよい。いくつかの態様において、ポリマーは、デンドリマーであってよい。いくつかの態様において、ポリマーは、互いに実質的に架橋されていてもよい。いくつかの態様において、ポリマーは、実質的に架橋を含まなくともよい。いくつかの態様において、ポリマーは、架橋のステップを経験することなく、本発明により用いられてもよい。さらに、合成ナノキャリアは、前述のおよび他のポリマーのうちのいずれかの、ブロックコポリマー、グラフトコポリマー、ブレンド、混合物および/または付加体(adduct)を含んでもよいことが、理解されるべきである。当業者は、本明細書において列記されるポリマーが、包括的なものではなく、本発明により使用することができるポリマーの例示的なリストを表すことを認識するであろう。

40

【0129】

50

いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、ポリマー性構成成分を含まない。いくつかの態様において、合成ナノキャリアは、金属粒子、量子ドット、セラミック粒子などを含んでもよい。いくつかの態様において、非ポリマー性合成ナノキャリアは、非ポリマー性構成成分の凝集物、例えば金属原子（例えば金原子）の凝集物である。

【0130】

免疫抑制薬

本明細書に提供されるとおりのいずれかの免疫抑制薬は、提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、合成ナノキャリアにカップリングされ得る。免疫抑制薬として、これらに限定されないが、以下が挙げられる：スタチン；mTORインヒビター、例えばラパマイシンまたはラパマイシンアナログ（ラパログ）；TGF- β シグナル伝達剤；TGF- β 受容体アゴニスト；ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）インヒビター；副腎皮質ステロイド；ミトコンドリアの機能のインヒビター、例えばロテノン；P38インヒビター；NF- κ Bインヒビター；アデノシン受容体アゴニスト；プロスタグランジンE2アゴニスト；ホスホジエステラーゼインヒビター、例えばホスホジエステラーゼ4インヒビター；プロテアソームインヒビター；キナーゼインヒビター；Gタンパク質共役受容体アゴニスト；Gタンパク質共役受容体アンタゴニスト；グルココルチコイド；レチノイド；サイトカインインヒビター；サイトカイン受容体インヒビター；サイトカイン受容体アクチベーター；ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体アンタゴニスト；ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体アゴニスト；ヒストンデアセチラーゼインヒビター；カルシニューリンインヒビター；ホスファターゼインヒビターおよび酸化型ATP。免疫抑制薬はまた、以下を含む：IDO、ビタミンD3、シクロスポリンA、アリール炭化水素受容体インヒビター、レスベラトロール、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アスピリン、ニフルミン酸、エストリオール、トリプトライド、インターロイキン（例えば、IL-1、IL-10）、シクロスポリンA、サイトカインまたはサイトカイン受容体を標的とするsiRNAなど。

【0131】

スタチンの例として、以下が挙げられる：アトルバスタチン（LIPITOR（登録商標））、TORVAST（登録商標）、セリバスタチン、フルバスタチン（LESCOL（登録商標））、LESCOL（登録商標）XL）、ロバスタチン（MEVACOR（登録商標））、ALTOCOR（登録商標）、ALTOPREV（登録商標）、メバスタチン（COMPACTIN（登録商標））、ピタバスタチン（LIVALO（登録商標））、PIAVA（登録商標）、ロスバスタチン（PRAVACHOL（登録商標））、SELEKTINE（登録商標）、LIPOSTAT（登録商標）、ロスバスタチン（CRESTOR（登録商標））、およびシンバスタチン（ZOCOR（登録商標））、LIPEX（登録商標））。

【0132】

mTORインヒビターの例として、以下が挙げられる：ラパマイシンおよびそのアナログ（例えば、CCL-779、RAD001、AP23573、C20-タアリルラパマイシン（C20-Marap）、C16-（S）-ブチルスルホンアミドラパマイシン（C16-BSrap）、C16-（S）-3-メチルインドールラパマイシン（C16-iRap）（Bayle et al. Chemistry & Biology 2006、13:99-107））、AZD8055、BEZ235（NVP-BEZ235）、クリソファン酸（クリソファノール）、デフォロリムス（MK-8669）、エベロリムス（RAD0001）、KU-0063794、PI-103、PP242、テムシロリムス、およびWYE-354（Selleck、Houston、TX、USAから入手可能）。

【0133】

「ラパログ」は、本明細書に使用されるとき、ラパマイシン（シロリムス）の（アナログ）に構造的に関係がある分子を指す。ラパログの例は、限定することなく、テムシロリムス（CCI-779）、エベロリムス（RAD001）、リダフォロリムス（AP-23573）、およびゾタロリムス（ABT-578）を含む。ラパログの追加の例は、例えば、WO刊行物第WO 1998/002441号および米国特許第8,455,510号において見出され、これらのラパログは、それらの全体において、参照により本明細書に組み込まれ

10

20

30

40

50

る。

【 0 1 3 4 】

合成ナノキャリアにカップリングするとき、合成ナノキャリアにカップリングする免疫抑制薬の量は、全合成ナノキャリアにおける材料の総乾燥処方重量に基づいて（重量／重量）、本明細書のいずれかに記載されるとおりである。好ましくは、本明細書に提供される方法または組成物またはキットのいずれか１ついくつかの態様において、ラパマイシンまたはラパログなどの免疫抑制薬の負荷量は、重量で、４％、５％、６５、７％、８％、９％または１０％および２５％、２６％、２７％、２８％、２９％、３０％、３１％、３２％、３３％、３４％、３５％、３６％、３７％、３８％、３９％または４０％の間である。

10

【 0 1 3 5 】

免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアに関して、構成要素が合成ナノキャリアにカップリングする方法は、有用であり得る。合成ナノキャリアの要素は、例として、１つ以上の共有結合により、合成ナノキャリア全体にカップリングさせても、１つ以上のリンカーにより付着していてもよい。合成ナノキャリアを官能化するさらなる方法は、Saltzmanらに対する公開された米国特許出願2006/0002852、DeSimoneらに対する公開された米国特許出願2009/0028910、またはMurthyらに対する公開された国際特許出願WO/2008/127532 A1から適応させてもよい。

【 0 1 3 6 】

いくつかの態様において、カップリングは、共有結合性リンカーであってもよい。態様において、本発明による免疫抑制薬は、アジド基とアルキン基を含む免疫抑制薬との１，３ - 双極性環付加反応により、またはアルキンとアジド基を含む免疫抑制薬との１，３ - 双極性環付加反応により形成される、１，２，３ - トリアゾールリンカーを介して、外部表面に共有結合によりカップリングさせることができる。かかる環付加反応は、好ましくは、好適なCu(I) - リガンドおよびCu(II)化合物を触媒活性Cu(I)化合物に還元するための還元剤と共に、Cu(I)触媒の存在下において行われる。Cu(I)により触媒されるアジド - アルキン環付加(CuAAC)はまた、クリック反応としても言及され得る。

20

【 0 1 3 7 】

加えて、共有結合性カップリングは、以下を含む共有結合性リンカーを含んでもよい：アミドリリンカー、ジスルフィドリリンカー、チオエーテルリンカー、ヒドラゾンリンカー、ヒドラジドリリンカー、イミンまたはオキシムリンカー、ウレアまたはチオウレアリンカー、アミジンリンカー、アミンリンカー、およびスルホンアミドリリンカー。

30

【 0 1 3 8 】

代替的にまたは加えて、合成ナノキャリアは、非共有結合性相互作用を介して、直接的または間接的に、構成成分にカップリングしていてもよい。非共有結合性の態様において、非共有結合性の付着は、電荷相互作用、アフィニティー相互作用、金属配位、物理的吸着、ホスト - ゲスト相互作用、疎水性相互作用、TTスタッキング相互作用、水素結合相互作用、ファン・デル・ワールス相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子 - 双極子相互作用および／またはそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない、非共有結合性相互作用により媒介される。かかるカップリングは、合成ナノキャリアの外部表面または内部表面上のものとなるように配置される。本明細書に提供される方法または組成物のいずれか１つの態様において、カプセル化および／または吸着は、カップリングの形態である。

40

【 0 1 3 9 】

利用可能な抱合方法の詳細な説明については、Academic Press, Inc.により2008年に刊行されたHermanson G T「Bioconjugate Techniques」、第２版を参照。共有結合による付着に加えて、構成成分は、予め形成された合成ナノキャリアへの吸着によりカップリングしても、または、それは、合成ナノキャリアの形成の間にカプセル化によりカップリングしていてもよい。

50

【 0 1 4 0 】

D. 方法および関連する組成物を作製および使用する方法

合成ナノキャリアは、当該分野において公知の多様な方法を用いて調製することができる。例えば、合成ナノキャリアは、ナノ沈殿、流体チャネルを用いるフローフォーカス (flow focusing)、スプレー乾燥、単一および二重のエマルジョン溶媒蒸発、溶媒抽出、相分離、粉碎 (milling)、マイクロエマルジョンの手法、微細加工、ナノ加工、犠牲層、単純および複雑なコアセルベーション、ならびに当業者に周知の他の方法などの方法により形成させることができる。あるいは、または加えて、単分散の半導体、伝導性、磁性、有機性および他のナノ材料のための水性および有機性の溶媒合成は記載されている (Pellegrino et al., 2005, Small, 1:48; Murray et al., 2000, Ann. Rev. Mat. Sci., 30:545; および Trindade et al., 2001, Chem. Mat., 13:3843)。さらなる方法は、文献において記載されている (例えば、Doubrow 編、「Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy」、CRC Press, Boca Raton, 1992; Mathiowitz et al., 1987, J. Control. Release, 5:13; Mathiowitz et al., 1987, Reactive Polymers, 6:275; および Mathiowitz et al., 1988, J. Appl. Polymer Sci., 35:755; 米国特許 5578325 および 6007845; P. Paolicelli ら、「Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles」Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)を参照)。

【 0 1 4 1 】

材料は、望ましい場合、以下を含むがこれらに限定されない多様な方法を用いて、合成ナノキャリア中にカプセル化することができる: C. Astete et al., 「Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles」J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 17, No. 3, pp. 247-289 (2006); K. Avgoustakis 「Pegylated Poly(Lactide) and Poly(Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles: Preparation, Properties and Possible Applications in Drug Delivery」Current Drug Delivery 1:321-333 (2004); C. Reis et al., 「Nanoカプセル化I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles」Nanomedicine 2:8- 21 (2006); P. Paolicelli et al., 「Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles」Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)。材料を合成ナノキャリア中にカプセル化するために好適な他の方法もまた用いることができ、これは、限定されないが、Unger に対して 2003 年 10 月 14 日に発行された米国特許 6,632,671 において開示される方法を含む。

【 0 1 4 2 】

ある態様において、合成ナノキャリアは、ナノ沈殿のプロセスまたはスプレー乾燥により調製される。合成ナノキャリアを調製することにおいて用いられる条件は、所望されるサイズまたは特性 (例えば、疎水性、親水性、外部の形態学、「粘着性 (stickiness)」、形状など) の粒子を得るために、改変してもよい。合成ナノキャリアを調製する方法および用いられる条件 (例えば、溶媒、温度、濃度、気流速度など) は、合成ナノキャリアに接着すべき材料、および / またはポリマーマトリックスの組成に依存し得る。

【 0 1 4 3 】

上の方法のいずれかにより調製された合成ナノキャリアが、所望される範囲の外のサイズ範囲を有する場合、合成ナノキャリアを、例えば篩を使用して、サイズ調整することができる。

本明細書において提供される組成物は、以下を含んでもよい: 無機または有機の緩衝化剤 (例えば、リン酸、炭酸、酢酸またはクエン酸のナトリウムまたはカリウム塩) および pH 調整剤 (例えば、塩酸、水酸化ナトリウムまたはカリウム、クエン酸または酢酸の塩、アミノ酸およびそれらの塩)、抗酸化剤 (例えば、アスコルビン酸、アルファ-トコフェロール)、界面活性剤 (例えば、ポリソルベート 20、ポリソルベート 80、ポリオキシエチレン 9 - 10 ノニルフェノール、デオキシコール酸ナトリウム)、溶解および / ま

たは凍結 / 溶解 (lyo) 安定化剤 (例えば、スクロース、ラクトース、マンニトール、トレハロース)、浸透圧調整剤 (例えば、塩または糖)、抗菌剤 (例えば、安息香酸、フェノール、ゲンタマイシン)、消泡剤 (例えば、ポリジメチルシロキサン)、保存剤 (例えば、チメロサル、2 - フェノキシエタノール、EDTA)、ポリマー性安定化剤および粘性調整剤 (例えば、ポリビニルピロリドン、ポロキサマー 488、カルボキシメチルセルロース) および共溶媒 (例えば、グリセロール、ポリエチレングリコール、エタノール)。

【0144】

本発明による組成物は、薬学的に受入可能な賦形剤、例えば保存剤、バッファー、食塩水、またはリン酸緩衝化食塩水を含んでもよい。組成物は、有用な投与形態に到達するための従来の医薬の製造および配合技術を用いて、製造することができる。提供される方法または組成物のいずれか1つの態様において、組成物は、注射のための無菌の生理食塩水溶液中に、保存剤と共に懸濁される。本発明を実施することにおける使用のために好適な技術は、Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice、Edward L. Paul, Victor, A. Atiemo-ObengおよびSuzanne M. Kresta編、2004年、John Wiley & Sons, Inc.; およびPharmaceutics: The Science of Dosage Form Design、第2版、M. E. Auten編、2001年、Churchill Livingstoneにおいて見出すことができる。提供される方法または組成物のいずれか1つの態様において、組成物は、注射のための無菌の生理食塩水溶液中に保存剤と共に懸濁される。

10

【0145】

本発明の組成物は、任意の好適な様式において製造すること、および本発明は、決して、本明細書において記載される方法を用いて生成され得る組成物に限定されるものではないことが、理解されるべきである。適切な製造の方法の選択は、関連する特定の部分の特性に対する注意を必要とし得る。

20

【0146】

提供される方法または組成物のいずれか1つのいくつかの態様において、組成物は、無菌条件下において製造されるか、最後に無菌化される。このことは、生じる組成物が無菌かつ非感染性であることを保証し、それにより、非無菌の組成物と比較した場合に、安全性を改善する。このことは、組成物を投与されている対象が、免疫欠損を有するか、感染症を罹患しているか、および / または感染に対して感受性である場合には特に、価値ある

30

【0147】

投与

本発明による投与は、これらに限定されないが、皮下、静脈内および腹腔内経路を含む多様な経路によるものであってよい。例えば、提供される処置方法のいずれか1つの組成物のための投与の様式は、例えば、約1時間にわたり行われてもよい静脈内注入などの静脈内投与によるものであってよい。本明細書において言及される組成物は、従来の方法を用いる投与のために、製造および調製されてもよい。

【0148】

本発明の組成物は、有効量、例えば本明細書において記載される有効量において投与することができる。提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのいくつかの態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの繰り返しされる複数回のサイクルの投与が行われる。剤形の用量は、本発明に従う免疫抑制薬の様々な量を含もっていてもよい。剤形中に存在する免疫抑制薬の量は、合成ナノキャリアおよび / または免疫抑制薬の性質、成し遂げられる治療的利益、および他のパラメーターに従って変更され得る。態様において、用量設定試験 (dose ranging study) は、剤形中に存在する構成要素 (単数または複数) の最適な治療量を確立するために行われ得る。態様において、構成要素 (単数または複数) は、本明細書に提供される応答 / 結果 / 効果のいずれか1以上をもたらす有効な量において剤形中に存在する。剤形は、様々な頻度において投与されてもよい。

40

【0149】

50

本発明の側面は、本明細書において提供されるような投与の方法のためのプロトコルを決定することに関する。プロトコルは、少なくとも、頻度、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの投与量を変化させ、続いて所望されるまたは望ましくない応答を査定することにより、決定することができる。プロトコルは、少なくとも、投与の頻度および免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの用量を含み得る。本明細書において提供される方法のうちのいずれか1つは、プロトコルを決定するステップを含んでもよく、または、投与するステップは、本明細書において提供されるような所望される結果のうちの1つ以上を達成することが決定されたプロトコルに従って行われる。本明細書に提供される方法のいずれかの態様において、組成物は、対象に予防的に；すなわち対象が疾患または障害または状態を経験するのに先立って提供される。

10

【0150】

本明細書に提供される、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物は、いくつかの態様において、治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原に付随して（例として、同時に）投与されないか、または治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原と（例として、異なる目的のための）免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとの別々の（例として、同じ投与された組成物においてではない）投与との組み合わせで付随して投与される。いくつかの態様において、本明細書に提供される、免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアを含む組成物は、治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原の1か月、1週間、6日、5日、4日、3日、2日、1日、12時間、6時間、5時間、4時間、3時間、2時間、または1時間以内に投与されない。上記のいくつかの態様において、別の治療薬に付随して投与される場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、本明細書に提供される効果のためのものであり、異なる目的のため、および/または別の治療薬に対する効果のためではない。上記のいくつかの態様において、他の治療薬に付随して投与される場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、1)異なる目的に加えて、または異なる目的のためではなく、および/または2)他の治療薬に対する効果のためではないか、または他の治療薬に対する効果に加えて、本明細書に提供される効果のためである。

20

【0151】

いくつかの態様において、他の治療薬および免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、免疫抑制薬を含むナノキャリアが他の治療薬に付随して投与される場合に達成させるものなどの、効果または他の治療薬に対する臨床的に有意義なまたは実質的な効果を有さない。いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して両方投与されるか、または投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、本明細書に提供される目的のための臨床的に有意な効果を、単独で、または他の治療薬に対するものなどの別の効果に加えて有する。

30

【0152】

いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して投与されないか、または本明細書に提供される目的のためではあるが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの他の治療薬に対する効果は、必要とされないか、または追加の効果である（付随して投与される場合）。いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、免疫抑制薬を含むナノキャリアが他の治療薬に付随して投与される場合に達成される他の治療薬に対する効果または臨床的に有意義なまたは実質的な効果（例として他の治療薬の増大した有効性）を有しない。

40

【0153】

本明細書に提供される、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物は、いくつかの態様において、治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原に付随して（例として、同時に）投与されないか、治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとの別々の投与（例として、同じ投

50

与された組成物ではない、および／またはオートファジーおよび／または本明細書に提供される所望される結果／効果／応答のいずれかを誘導するまたは増大させるためなどではない、などの異なる目的のために別々に投与される）との組み合わせで付随して投与される。いくつかの態様において、本明細書に提供される、免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアを含む組成物は、治療的高分子、ウイルスベクター、またはAPC提示可能抗原の1か月、1週間、6日、5日、4日、3日、2日、1日、12時間、6時間、5時間、4時間、3時間、2時間、または1時間以内に投与されない。上記のいくつかの態様において、別の治療薬に付随して投与される場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、本明細書に提供される効果のためであり、および異なる目的（または少なくとも単独ではない）のためではなく、および／または他の治療薬に対する効果（または少なくとも単独ではない）のためではない。いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、免疫抑制薬を含むナノキャリアが他の治療薬に付随して投与される場合に達成されるなどの他の治療薬に対する効果または臨床的に有意義なまたは実質的な効果を有しない。

【0154】

10

いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して両方投与されるか、または投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、オートファジーに対する臨床的に有意な効果を単独で、または他の治療薬に対するものの別の効果に加えて有する。

【0155】

20

いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して投与されないか、または本明細書に提供される目的のためではあるが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアの他の治療薬に対する効果は、必要とされないか、または追加の効果である（付随して投与される場合）。いくつかの態様において、他の治療薬と免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアとが付随して投与されない場合、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、免疫抑制薬を含むナノキャリアが他の治療薬に付随して投与される場合に達成される他の治療薬に対する効果または臨床的に有意義なまたは実質的な効果（例として他の治療薬の増大した有効性）を有しない。

【0156】

本明細書に記載の組成物および方法は、1以上のオートファジー関連疾患または障害を有するか、またはそれを有するリスクにある対象のために使用され得る。オートファジー関連疾患および障害の例は、これらに限定されないが、リソソーム蓄積症、神経変性疾患（例として、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病；他の運動失調症）、慢性炎症性疾患（例として、炎症性腸疾患、クローン病、リウマチ性関節炎、ループス、多発性硬化症、慢性閉塞性肺疾患／COPD、肺線維症、嚢胞性線維症、シェーグレン病；高血糖障害、糖尿病（I型およびII型）（例として、重度のインスリン抵抗性、高インスリン血症、インスリン耐性糖尿病、メンデンホール症候群、ウェルナー症候群、レブレコーニズム、および脂肪萎縮性糖尿病）、脂質異常症（例として高脂血症、高い低比重リポタンパク質（LDL）、低い高比重リポタンパク質（HDL）、高いトリグリセリド）、メタボリックシンドローム、肝疾患、腎疾患（例として、プラーク、糸球体疾患）、心血管疾患（例として、虚血、脳卒中、再灌流中の圧力過負荷および合併症）、筋肉変性および萎縮（例として、筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）、先天性筋ジストロフィー（CMD）、ベスレム型CMD、福山型CMD、筋眼脳病（muscle-eye-brain diseases）（MEB）、強直性脊椎症候群、ウルリッヒ型CMD、ウォーカー・ワルブルグ症候群（WWS）、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）、エメリ・ドレフュス型筋ジストロフィー（EDMD）、顔面・肩甲・上腕筋ジストロフィー（FSHD）、肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）、筋強直症ジストロフィー（DM）、眼咽頭型筋ジストロフィー（OPMD））、代謝の先天異常（有機酸血症、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症）、老化現象の症状（例として、筋萎縮症、フレイル、代謝障害、軽度の炎症、アテローム性動脈硬化、

30

40

50

脳卒中、加齢性認知症、アルツハイマー病、および、うつ病を含む精神病的状態)、脳卒中、脊髄傷害、動脈硬化症、感染性疾患(例として、細菌、真菌、細胞、ウイルス感染)、発生(例として、赤血球分化)、および胚形成/生殖能力(fertility)/不妊(infertility)を含む。

【0157】

例示の自己免疫疾患は、これらに限定されないが、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM/抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫血管性浮腫、自己免疫自律神経失調症、自己免疫脳脊髄炎、自己免疫肝炎、自己免疫内耳疾患(AIED)、自己免疫心筋炎、自己免疫膵炎、自己免疫網膜症、自己免疫じんましん、軸索性およびニューロン性ニューロパチー(Axonal & neuronal neuropathy)(AMAN)、バロー病(Bal disease)、ベーチェット病、良性粘膜類天疱瘡、水疱性類天疱瘡、キャッスルマン病疾患(CD)、セリアック病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)、慢性再発性多発性骨髄炎(CRMO)、チャグ・ストラウス症候群、癬痕性類天疱瘡、コガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST症候群、クローン病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病(視神経脊髄炎)、円板状皮疹、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎(EoE)、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、混合性本態性クリオグロブリン血症、エバンス症候群、線維筋痛症、線維化性肺肺炎、巨細胞性動脈炎(側頭動脈炎)、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病(HSP)、妊娠性疱疹(Herpes gestationis)または妊娠性類天疱瘡(pephigoid gestationis)(PG)、低ガンマグロブリン血症、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫性血小板減少性紫斑病(ITP)、封入体筋炎(IBM)、間質性膀胱炎(IC)、若年性関節炎、若年性糖尿病(1型糖尿病)、若年性筋炎(JM)、川崎病、ランバート・イートン症候群、白血球破碎性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質結膜炎、線状IgA病(LAD)、ループス、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎(MPA)、混合性結合組織疾患(MCTD)、モーレン潰瘍、ムッカ・ハーベルマン病、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部癬痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ(PR)、PANDAS、傍腫瘍性小脳変性症(PCD)、発作性夜間ヘモグロビン尿(PNH)、パリー・ロンバーグ症候群、扁平部炎(末梢ブドウ膜炎)、パーソネージ・ターナー症候群、天疱瘡、末梢神経障害、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血(PA)、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多腺性症候群I型、II型、III型、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開術後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球癆(PRCA)、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経性ジストロフィー、再発性多発軟骨炎、下肢静止不能症候群(RLS)、後腹膜線維症、リウマチ熱、リウマチ性関節炎、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣自己免疫(Sperm & testicular autoimmunity)、スティッフパーソン症候群(SPS)、亜急性細菌性心内膜炎(SBE)、スザック症候群、交感神経性眼炎(SO)、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病(TTP)、トロサ・ハント症候群(THS)、横断性脊髄炎、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎(UC)、未分化の結合組織疾患(UCTD)、ブドウ膜炎、血管炎、白斑、およびウェゲナー肉芽腫症(または多発血管炎性肉芽腫症(GPA))を含む。

【0158】

例示の神経変性疾患は、これらに限定されないが、脱髄疾患(例として、多発性硬化症および急性横断性脊髄炎);錐体外路のおよび小脳性の障害(例として、皮質脊髄系の病変);大脳基底核の障害または小脳性障害;運動過多症(例として、ハンチントン病、ハンチントン舞蹈病および老人性舞蹈病);薬物誘導性運動障害(例として、CNSドーパミン受容体をブロックする薬物により誘導されるもの);運動減少症(例として、パーキ

10

20

30

40

50

ンソン病)；進行性核上性麻痺；小脳性および脊髄小脳性障害(例として、小脳の構造上の病変)；脊髄小脳性の変性(例として、脊髄性運動失調症、フリースライヒ運動失調症、小脳性皮質変性症、多系統萎縮症(メンセル(Mencel)、デジェリーヌ・トーマス、シャイ・ドレーガー、およびマチャド・ジョセフ))；全身性障害(レフサム病、無βリボタンパク血症、運動失調症、毛細血管拡張症、およびミトコンドリア多系障害(mitochondrial multi-system disorder))；運動単位の障害(例として、神経原性筋萎縮症(筋萎縮性側索硬化症、小児性脊髄性筋萎縮症および若年性脊髄性筋萎縮症などの前角細胞疾患))；アルツハイマー病；筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ダウン症候群(例として、中年における)；びまん性レビー小体病；レビー小体型の老年性認知症；ウェルニッケ・コルサコフ症候群；慢性アルコール依存症；クロイツフェルト・ヤコブ病；亜急性硬化性全脳炎、ハラーフォルデン・シュパッツ病；およびボクサー認知症を含む。いくつかの態様において、神経変性疾患は、アルツハイマー病を含む。いくつかの態様において、神経変性疾患は、ハンチントン病である。いくつかの態様において、神経変性疾患は、パーキンソン病である。いくつかの態様において、神経変性疾患は、ALSである。

10

20

30

40

【0159】

本明細書に提供される方法または組成物のいずれか1つの態様において、対象は、炎症性疾患を有するか、またはそれを有するリスクにあるものである。炎症性疾患は、これらに限定されないが、臓器移植拒絶反応；臓器移植に起因する再酸素化損傷；関節の慢性炎症性疾患(例として、関節炎、リウマチ性関節炎、骨関節炎および増大した骨再吸収に関連する骨疾患)；炎症性腸疾患(例として、回腸炎、潰瘍性大腸炎、バレット症候群、およびクローン病)；炎症性肺疾患(例として、喘息、成人呼吸窮迫症候群、および慢性閉塞性気道疾患)；眼の炎症性疾患(例として、角膜ジストロフィー、トラコーマ、オンコセルカ症、ブドウ膜炎、交感性眼炎および眼内炎)；歯肉の慢性炎症性疾患(例として、歯肉炎および歯周炎)；結核；ハンセン病；腎臓の炎症性疾患(例として、尿毒症合併症、糸球体腎炎およびネフローゼ)；皮膚の炎症性疾患(例として、強皮症、乾癬および湿疹)；中枢神経系の炎症性疾患(例として、神経系の慢性脱髄性疾患、多発性硬化症、AIDSに関する神経変性、アルツハイマー病、感染性髄膜炎、脳脊髄炎、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、およびウイルス性または自己免疫性脳炎)；自己免疫疾患(例として、I型およびII型糖尿病)；糖尿病性の合併症(例として、糖尿病性の白内障、緑内障、網膜症、腎症、微量アルブミン尿症、進行性糖尿病性腎症、ポリニューロパチー、足の壊疽、アテローム性動脈硬化性冠状動脈疾患、末梢動脈疾患、非ケトン性高血糖高浸透圧性昏睡、モノニューロパチー、自律性ニューロパチー、足部潰瘍、関節障害、および感染、シンスポット(shin spot)、カンジダ感染または糖尿病性リポイド類壊死症(necrobiosis lipoidica diabetorum)などの皮膚または粘膜の合併症、；免疫複合性血管炎、全身性紅斑性狼瘡(SLE))；心臓の炎症性疾患(例として、心筋症、虚血性心疾患、高コレステロール血症、およびアテローム性動脈硬化)；および有意な炎症性構成要素を有し得るいずれかの他の疾患または障害(例として、子癇前症、慢性肝臓不全、および脳および脊髄外傷)を含む。炎症性疾患はまた、グラム陽性またはグラム陰性ショック、出血性またはアナフィラキシーショックによって例示される身体の全身性炎症であり得る。

40

【0160】

肝疾患は、これらに限定されないが、代謝性肝疾患(例として、非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)および非アルコール性脂肪性肝炎(NASH))；アルコールに関する肝疾患(例として、脂肪肝、アルコール性肝炎)；自己免疫性肝疾患(例として、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎)；ウイルス感染(例として、A型、B型、またはC型肝炎)；遺伝性の代謝障害(例として、アラジール症候群、アルファ-1抗トリプシン欠乏、クリグラー・ナジャー症候群、ガラクトース血症、ゴーシェ病、尿素サイクル障害(例として、オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症)、ジルベール症候群、ヘモクロマトーシス、リソソーム酸リパーゼ欠損症(LAL-D)、有機酸血症(例として、メチルマロン酸血症)、ライ症候群、I型グリコーゲン蓄積症

50

、およびウィルソン病）；薬物肝毒性（例として、アセトアミノフェン、非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセンナトリウム、スタチン、抗生物質、例として、アモキシシリン・クラバン酸またはエリスロマイシン、関節炎薬、例として、メトトレキサートまたはアザチオプリン、抗真菌薬、ナイアシン、ステロイド、アロプリノール、抗ウイルス薬、化学治療、ハーブサプリメント、例として、アロエベラ、ブラックコホシュ、カスカラ、チャパラル、コンフリー、マオウ、またはカバ、塩化ビニル、四塩化炭素、パラコート、またはポリ塩化ビフェニル）への暴露；および線維症（例として、肝硬変）を含む。

【0161】

代謝の先天異常は、これらに限定されないが、有機酸血症、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、尿素サイクル障害、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、シトルリン血症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、メープルシロップ尿症（MSUD）、フェニルケトン尿症、グリコーゲン蓄積症1～13型、G6PD欠損症、グルタル酸血症、チロシン血症、アミノ酸代謝の障害、脂質代謝の障害、炭水化物代謝の障害を含む。

【0162】

感染性疾患は、これらに限定されないが、ウイルス、細菌、マイコバクテリウムイ、マイコプラズマ、スピロヘータ、真菌、寄生体、アメーバ、蠕虫、または孢子虫により引き起こされるものを含む。いくつかの態様において、疾患は、細菌感染症である。他の態様において、疾患は、ウイルス感染症である。いくつかの態様において、疾患は、Mycobacterium tuberculosisにより引き起こされる結核である。いくつかの態様において、感染性疾患は、A群連鎖球菌により引き起こされる。いくつかの態様において、疾患は、ウイルス性疾患である。いくつかの態様において、ウイルス感染症は、ヘルペスウイルス（例として、単純ヘルペスウイルスI型）により引き起こされる。

【0163】

投薬

本明細書に提供される組成物は、投薬スケジュールに従って投与されてもよい。本明細書に提供されるのは、数多の実行可能な投薬スケジュールである。結果的に、本明細書に提供される対象のいずれか1つは、本明細書に提供される投薬スケジュールのいずれか1つに従って処置されてもよい。例として、本明細書に提供される対象のいずれか1つは、これらの投薬量スケジュールのいずれか1つに従って、ラパマイシンなどの免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアを含む組成物で処置されてもよい。

【0164】

例

例1：免疫抑制薬を含む合成ナノキャリア（仮説（Prophetic））

ラパマイシンなどの免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、当業者に公知の任意の方法を用いて生成することができる。好ましくは、本明細書において提供される方法または組成物のうちのいずれか1つのいくつかの態様において、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、米国公開番号US 2016/0128986 A1および米国公開番号US 2016/0128987 A1の方法のうちのいずれか1つにより生成され、記載される生成の方法および生じる合成ナノキャリアは、その全体において本明細書において参考として援用される。本明細書において提供される方法または組成物のうちのいずれか1つにおいて、免疫抑制薬を含む合成ナノキャリアは、かかる援用される合成ナノキャリアである。

【0165】

例2：免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアは、オルニチントランスカルバミラーゼ（OTC）欠損症のマウスモデルにおいて、オートファジーを誘導する

OTC欠損症のためのマウスモデルであるOTC^{spf-ash}マウスを、出生後30日間、4、8、または12 mg/kgの用量でのImmTOR（商標）（カプセル化されたラパマイシンを含むPLA/PLA-PEG合成ナノキャリア）の単回の注射で、また空のナノ粒子の単回の注射で処置した。OTC^{spf-ash}マウスに投与されたImmTOR（商標）の単回用量は、オートファジーバイオマーカーである肝臓LC3IIおよ

10

20

30

40

50

び A T G 7 を誘導し、オートファジーバイオマーカーである p 2 6 を低減させ、オートファジーにおける増大と一致する (図 1)。これは、O T C 欠損症のマウスモデルにおいて、I m m T O R (商標) の単回注射が、オートファジーを増大させたことを実証する。

【 0 1 6 6 】

例 3：炎症剤による処置前または後の免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアの投与

実験室モデルにおいて、薬物毒性により誘導された肝不全、ならびに慢性および急性の炎症反応を研究するいくつかの容認されているモデルが存在し、その 1 つは、重篤な肝臓傷害を誘導し、ヒト肝疾患、具体的には、自己免疫性およびウイルス性肝炎における肝臓損傷の病態生理の研究のためにしばしば使用される (Tiegs et al., 1992; Miyazawa et al., 1998)、亜致死量のポリクロール T 細胞アクチベーターであるコンカナバリン A (C o n A) でチャレンジしたマウスを含む。C o n A で処置されたマウスは、血清中のトランスアミナーゼレベルの顕著な増大、および広範な肝細胞壊死の死に繋がる肝臓へのリンパ球の大量浸潤に特徴付けられる肝不全の重要な臨床的および生化学的特色を即座に現す (Zhang et al., 2009)。様々な免疫抑制化合物の全身用量による前治療は、C o n A チャレンジに対して有益であることが示されている一方で、これらの介入は肝臓特異的でも実用的でもない。

【 0 1 6 7 】

野生型 B A L B / c 雌性マウスの 3 つの群に、C o n A (1 2 m g / g) を単独で、または C o n A 注射の 1 時間前にまたは 1 時間後に、2 0 0 μ g のラパマイシンで免疫抑制薬 (I m m T O R (商標)) にカップリングした合成ナノ粒子の静脈内注射のいずれかで静脈内 (i . v .) 注射した。2 4 時間後、動物から末梢血を採取し、アラニンアミノトランスフェラーゼ (A L T) の血清濃度をマウスアラニンアミノトランスフェラーゼ活性比色 / 蛍光分析アッセイ (Biovision, Milpitas, CA) を使用して測定した。

C o n A のみの注射を受けたマウスのほぼすべてが深刻な A L T 上昇を示した一方で、予防的に (C o n A チャレンジの 1 時間前) または治療的に (C o n A チャレンジの 1 時間後) にかかわらず、I m m T O R (商標) で処理したマウスにおいて、A L T レベルははるかに低かった (図 2)。これは、C o n A 投与前または投与後のいずれかの I m m T O R (商標) ナノ粒子の単回静脈内注射が、C o n A 誘導毒性に対して有意な利益を提供することを実証する。

【 0 1 6 8 】

例 4：免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアは、オルニチントランスカルバミラーゼ (O T C) 欠損症のマウスモデルにおいて、尿のオロト酸レベルを低減させる

若年性 O T C s p f - a s h マウスにおける I m m T O R (商標) ナノ粒子の忍容性研究を行った。空のナノ粒子または I m m T O R (商標) ナノ粒子を O T C s p f - a s h 若年性マウスにおいて i . v 注射した。1 4 日後、注射したマウスを、処理したマウスの肝臓ライセートにおけるオートファジーマーカーについて試験した (図 3)。注目すべきことに、O T C s p f - a s h マウスへの I m m T O R (商標) の単回用量は、オートファジーバイオマーカーである肝臓 L C 3 I I および A T G 7 を誘導し、オートファジーバイオマーカー p 6 2 を低減させ、オートファジーの増大に一致する。これは、O T C 欠損症のマウスモデルにおいて、I m m T O R (商標) の単回注射が、尿のオロト酸を減少させること、およびこの減少はオートファジーの増大に関連することを実証する。

【 0 1 6 9 】

例 5：合成ナノキャリアは、オートファジー活性化を介して、O T C s p f - a s h マウスにおいて、尿のオロト酸および肝臓アンモニアを低減する

O T C s p f - A s h 表現型における I m m T O R (商標) 粒子の有益な効果をさらに調査および確認するために、若年性 O T C s p f - A s h マウス (3 0 日齢) に 1 2 m g / k g I m m T O R (商標) 粒子または 1 2 m g / k g の空の粒子を静脈内 (I V) にした。注射は後眼窩に行った。I m m T O R (商標) で処置されたおよび空のナノ粒子で処置された動物からの肝臓を、乳鉢で粉碎し、全肝臓タンパク質ライセートを 0 . 5 % T

10

20

30

40

50

riton-x、10 mM Hepes pH 7.4、および2 mM ジチオスレイトールを含有する溶解緩衝剤で粉末から調製した。10 μ g の肝臓ライセートをオートファジーの最も一般的なマーカーであるLC3 II、ATG7およびp62を認識する抗体を用いたウェスタンブロットにより分析した(図4A)。注目すべきことに、ImmTOR(商標)で処置された動物から収穫した肝臓は、ATG7オートファジーマーカーの増大およびLC3 IIおよびp62マーカーの減少を示し(図4B)、これは、ImmTOR(商標)投与後のオートファジー流動の活性化を示す。これらのデータは、ImmTOR(商標)粒子が、OTC Spf-Ashマウスにおける肝臓のオートファジー流動を活性化することを支持する。

【0170】

10

例6：マウスモデルにおける免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアの投与

肝臓にトラフィックする合成ナノキャリアの表現型の特徴を検出するために、一群のマウスを、200 μ g のラパマイシンの用量で免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリア(ImmTOR(商標)-Alexa 488)で、示される日(-3日、-2日および-1日)において後眼窩に注射した、または未処置のまま残した。ImmTOR(商標)をカプセル化された蛍光タグAlexa 488で修飾した(ImmTOR(商標)-Alexa 488)(図5A)。示された時間において(0日目)、脾臓を収穫し、肝臓を処理した。具体的には、肝臓をコラゲナーゼIVで還流し、約1 mmの立方体に切断した。400 Uコラゲナーゼ4を添加し、肝臓を脱凝集するまで攪拌した。赤血球細胞を溶解し、濾過した。肝臓細胞を次いでFc受容体についてブロックし、細胞表面受容体を染色し、これに続き、フローサイトメトリーを行った。フローサイトメトリーのプロトコルおよび分析は、当該技術分野において知られている。結果を収穫したすべての肝臓細胞のA488⁺のパーセンテージとして示した。

20

【0171】

肝臓にトラフィックするImmTOR(商標)-A488は、時間依存性の様式におけるImmTOR(商標)-A488(-3日、-2日および-1日)の注射ですべての指定された時間において、明白であり(図5B)、-1日において最も高いImmTOR(商標)-A488発現(すなわち、24時間;約27%)および、-3日において最も低いImmTOR(商標)-A488発現(すなわち、72時間;約10%)であった。しかしながら、試験された様々な時点の間で、肝臓にトラフィックするImmTOR(商標)-A488の統計的有意性は観察されなかった。

30

【0172】

例7：マウス肝臓におけるMHCクラスIIおよびPD-L1発現に関する免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアの投与の効果

マウスの2つの群を、フローサイトメトリー分析のために肝臓組織の収穫および処理の7日前に、200 μ g のラパマイシンにおいて免疫抑制薬にカップリングした合成ナノ粒子(ImmTOR(商標)-CY5)で後眼窩に注射するか、未処置のまま残すかのいずれかにした。未処置のマウスを未処置対照として、かつフローサイトメーターのためのベースライン決定として供した。フローサイトメトリーのプロトコルおよび分析は、当該技術分野において知られている。

40

【0173】

図6Aに示されるとおり、その細胞表面発現に基づく所与の細胞型の発現を、フローサイトメトリーを介して最初に決定した。具体的には、肝臓洞内皮細胞(LSEC)は、F4/80陰性、CD68陰性、およびマンノース受容体陽性発現を有することが示されている。LSEC上のMHC-2の発現を、次いで査定した。ImmTOR(商標)-CY5で処置された肝臓細胞を、次いで、収穫された肝臓細胞上のMHCクラスIIの相対的な陰性または陽性発現を示す陽性または陰性Cy5シグナルに基づいて分離した。ImmTOR(商標)-CY5の投与の7日後、全肝細胞、ImmTOR(商標)-CY5注射なしの肝細胞、および未処置対照群(ナイーブ)と比較した場合、肝細胞MHCクラスIIは下方調節された一方で、肝細胞PD-L1は上方調節された(図6B)。PD-L1

50

上方調節が、免疫（T細胞死）の減衰および免疫寛容性の増強を指し示すことは当該技術分野において知られている。MHCクラスII下方調節は、少なくとも、免疫（CD4ヘルパーT細胞）の減衰および免疫寛容性の増強を指し示す。したがって、結果は、200 μ gのラパマイシンにおけるImmTOR（商標）の投与は、少なくとも、PD-L1の発現の増大およびMHCクラスIIの発現の減少を介して寛容原性の効果を改善することを示す。

【0174】

例8：免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアは、肝細胞においてT細胞応答プロファイルを媒介した

ある期間にわたる肝臓レジデントT細胞集団への免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアの効果を決定するために、マウスを以下の群に割り当てた：（1）肝臓組織の収穫および処理の7日前の200 μ gのラパマイシンでのImmTOR（商標）-CY5、（2）肝臓組織の収穫および処理の5日前の200 μ gのラパマイシンでのImmTOR（商標）-CY5、（3）肝臓組織の収穫および処理の3日前の200 μ gのラパマイシンでのImmTOR（商標）-CY5、または（4）未処置の対照（図7）。具体的には、LSEC細胞を、CD146（黒色腫細胞接着分子（MCAM）としても知られている）を同定する免疫磁気ビーズ選択法を介して増強した。肝臓マクロファージクッパー細胞（KC）およびT細胞を処理された肝臓細胞から直接染色した。LSEC、KCおよびその肝臓-レジデントT細胞の表現型を次いで評価した。

【0175】

ImmTOR（商標）は、研究設計に示されるとおり、ある期間にわたり、主要細胞表面活性化マーカー（PD-L1、MHC-II）発現を媒介した。具体的には、200 μ gのラパマイシンの用量のImmTOR（商標）は、未処置のマウス（ナイーヴ）と比較して、投与後、7日、5日、および3日のマウスにおいて、PD-L1発現を有意に上方調節したが（** $p < 0.01$ ）、最も高いPD-L1上方調節は、ImmTOR注射の3日後であった（図8A）。同様に、PD-L1は、3日から7日までKCにおいて有意に（* $p < 0.05$ または** $p < 0.01$ ）上方調節され、発現の最も高いレベルは、ImmTOR注射の5日後に見られた（図8B）。PD-L1上方調節はまた、LSECにおける成功したImmTOR（商標）取り込みに起因することが確認された。図10に示されるとおり、すべてのImmTOR（商標）処置マウスにおけるLSECは、時点を問わず、ImmTOR（商標）の処置をしなかったナイーヴマウスと比較した場合、有意にPD-L1を上方調節した（** $p < 0.01$ ）。200 μ gのラパマイシンの用量のImmTOR（商標）は、未処置のマウス（ナイーヴ）と比較して、投与後7日、および5日のマウスLSECにおいて、MHCクラスIIを有意に下方調節し（** $p < 0.01$ ）（図9A）、3日から7日まで肝臓KCにおいてさらにいっそう有意であった（* $p < 0.05$ または** $p < 0.01$ ）（図9B）。

【0176】

ImmTOR（商標）は、図11Aおよび図11Bに示されるとおり、抗原提示細胞活性化マーカーを下方調節した。具体的には、CD80は、200 μ gのラパマイシンの用量のImmTOR（商標）の投与後、3日（* $p < 0.05$ ）および5日（** $p < 0.01$ ）のLSECにおいて、有意に下方調節された（図11A）。CD86は、200 μ gのラパマイシンの用量のImmTOR（商標）の投与後、すべての時点（7日、5日、および3日）（** $p < 0.01$ ）において、LSECにおいて有意に下方調節された（図11B）。寛容原性の表現型は、寛容原性の表現型を表すすべての3つのマーカー（下方調節されたCD80⁺、下方調節されたCD86⁺、および上方調節されたPD-L1⁺）の組み合わせによって、LSECにおける200 μ gのラパマイシンの用量のImmTOR（商標）により誘導されることが示され、ここで、LSECは、未処置のマウス（ナイーヴ）（** $p < 0.01$ ）と比較して、投与後7日、5日、および3日の処置されたマウスにおいて、有意な寛容原性の表現型を示した（図12）。

【0177】

例 9：可溶性免疫抑制薬ではなく、免疫抑制薬にカップリングした合成ナノキャリアは、肝細胞における T 細胞応答プロファイルを媒介した

免疫抑制薬の処置に関連する肝細胞における T 細胞応答プロファイルを評価するために、2 つの研究を実行した。1 つ目の研究において、マウスを、肝臓細胞の収穫および処理の 7 日前に $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) で処置するか、または未処置のまま残した (図 13)。2 つ目の研究において、マウスを以下の群に割り当てた：(1) 肝臓細胞の収穫および処理の 7 日前の、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) での後眼窩注射、(2) $200 \mu\text{g}$ 可溶性ラパマイシンでの腹腔内注射、および (3) 未処置対照 (図 13)。代替的に、追加の時点 (5 日または 3 日) を評価した。両方の研究において、T 細胞プロファイリングおよび / または T 細胞の相対的な数を ImmTOR 注射の 7 日後に決定した。

10

【0178】

図 14 A に示されるとおり、CD4 T 細胞の発現は、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 7 日、5 日および 3 日のナイーヴマウスと比較して有意に下方調節された。具体的には、CD4 T 細胞は、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 5 日または 3 日 ($***p < 0.001$) と比較して、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 7 日目に最も有意に減少した ($****p < 0.0001$)。CD4 CD25 制御性 T 細胞は、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 7 日、5 日および 3 日のナイーヴマウスと比較して有意に下方調節された (図 14 B)。具体的には、CD4 T CD25 調節性細胞は、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 5 日または 3 日 ($***p < 0.001$) と比較して、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 7 日に最も有意に増大した ($****p < 0.0001$)。CD4 PD-1⁺ T 細胞は、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 7 日および 5 日のナイーヴマウスと比較して、有意に上方調節された ($*p < 0.05$) 一方で、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の投与後 3 日のマウスについて、有意な変化は観察されなかった (図 14 C)。

20

【0179】

図 15 A および図 15 B に示されるとおり、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) は、可溶性ラパマイシンまたはナイーヴ未処置群と比較して、CD4⁺ CD25⁺ PD-1⁺ T 細胞の誘導を増大させた。可溶性ラパマイシンは、測定可能な効果を有しなかった。CD8⁺ T 細胞のパーセンテージは、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の処置によって有意に減少した一方で、可溶性ラパマイシンは、測定可能な効果を有しなかった (図 16 A)。同様に、 $200 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量の ImmTOR (商標) の処置のみは、ナイーヴである未処置群と比較して、二重陰性 (すなわち、CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻) T 細胞の発現を有意に増強した (図 16 B)。

30

【0180】

例 10：GvHD

GvHD の B6 - t o - F1 または B6 - t o - B a l b モデルのいずれかを使用して、 $15 \sim 50 \mu\text{g}$ のラパマイシンの用量における ImmTOR (商標) 投与の効果を査定した。投与の様式は、腹腔内に与えられる慢性ラパマイシンを除いて、静脈内であった。結果を図 17 ~ 23 に示す。

40

【 図面 】
【 図 1 】

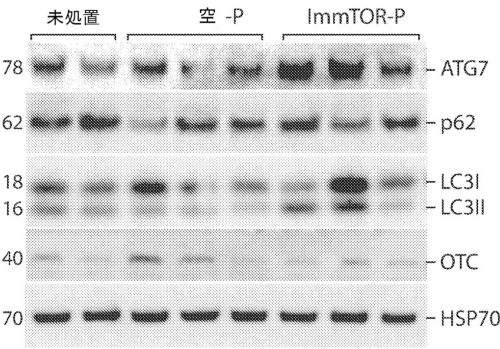


図 1

【 図 2 】

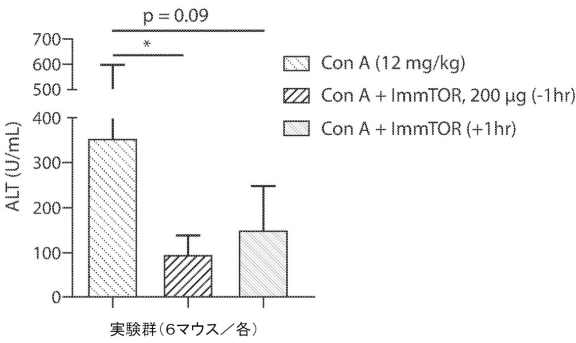


図 2

【 図 3 】

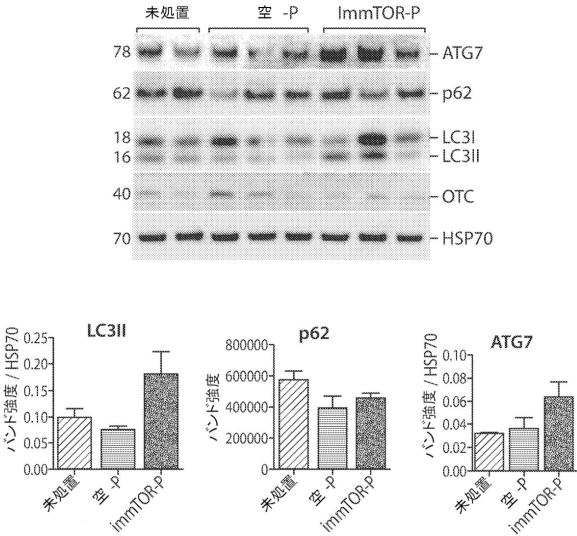


図 3

【 図 4 】

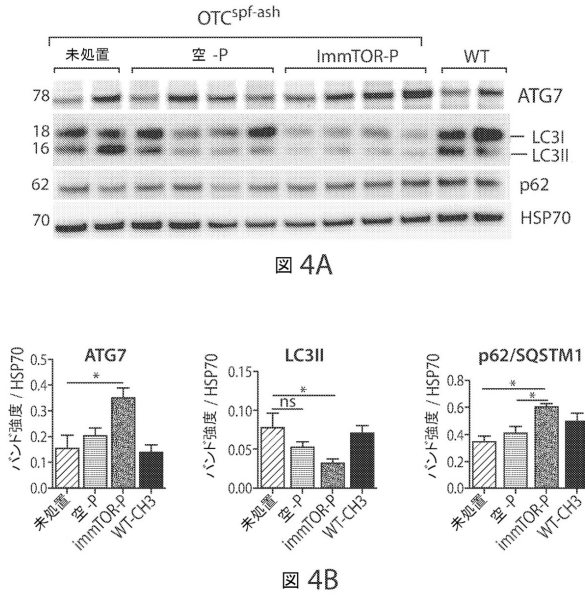


図 4A

図 4B

10

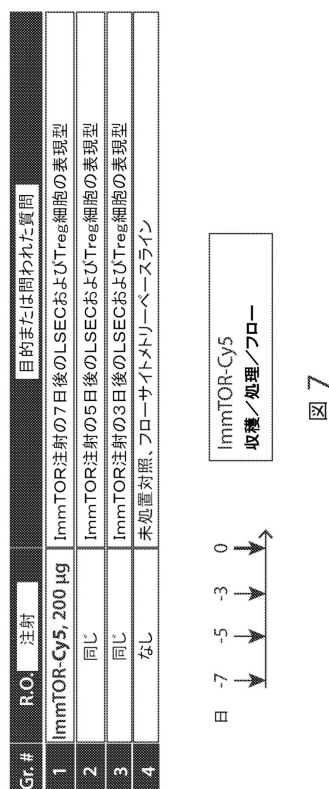
20

30

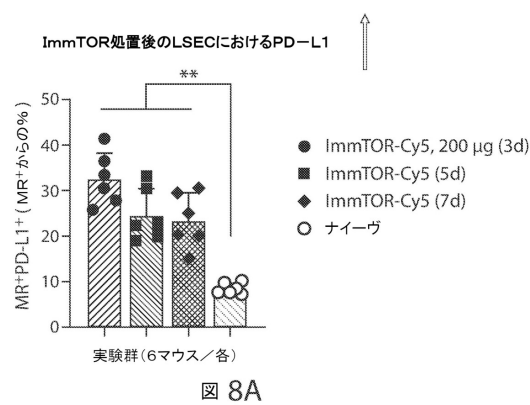
40

50

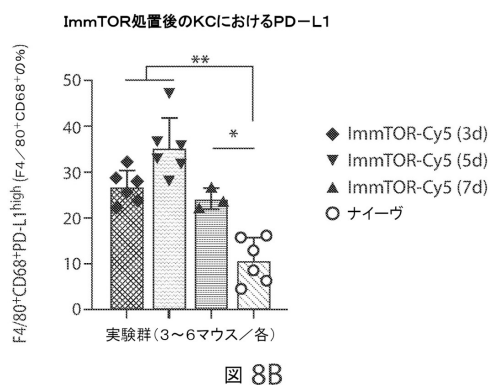
【圖 7】



【圖 8】

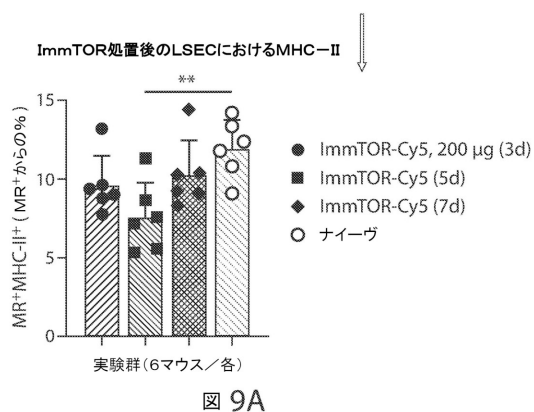


10

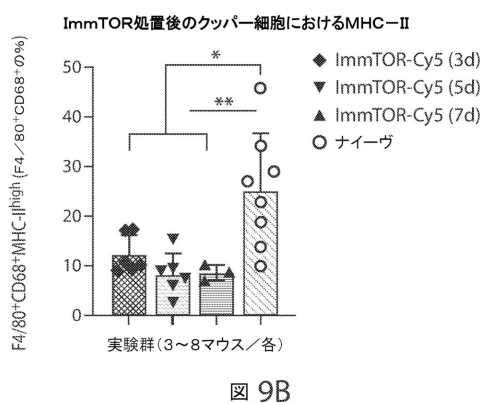


20

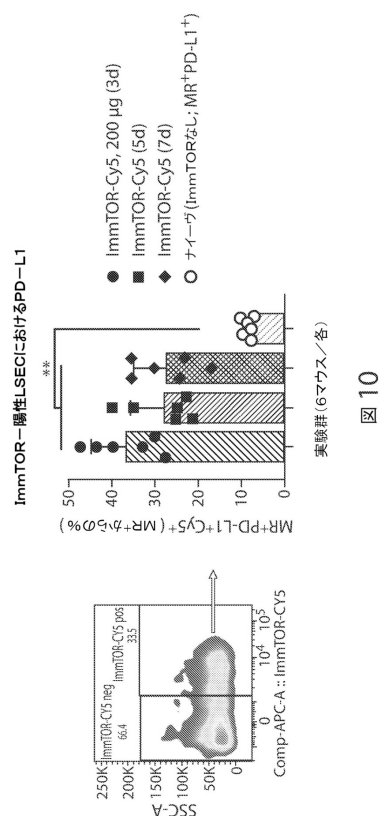
【 図 9 】



30



【 図 1 0 】



40

【 図 1 1 】

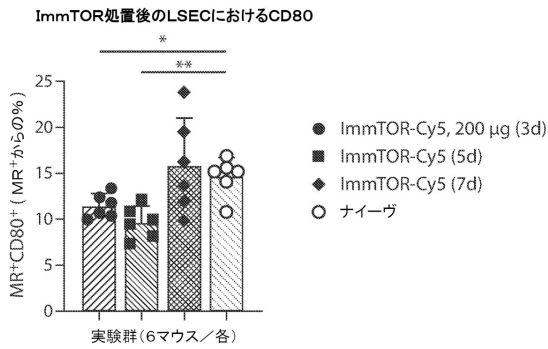


図 11A

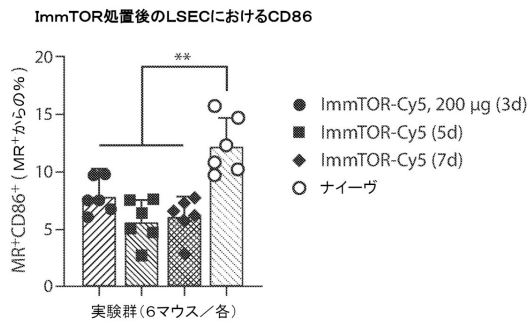


図 11B

【 図 1 2 】

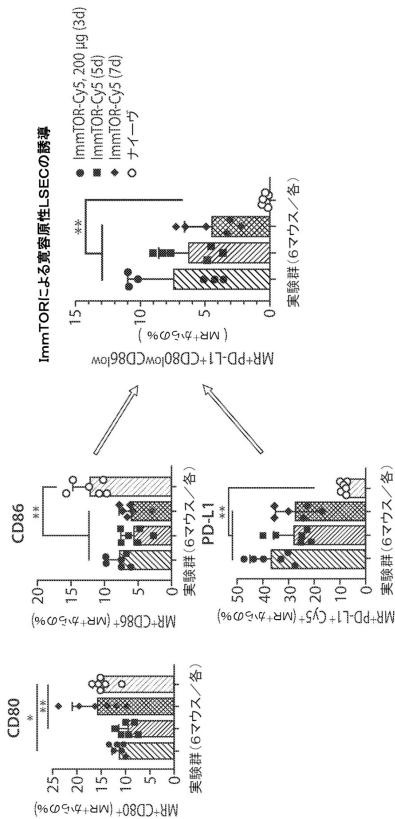


図 12

【 図 1 3 】

Gr.#	R.O.	注射	目的または問われた質問
1	ImmTOR, 200 µg	なし	ImmTOR注射の7日後のT細胞の表現型、相対的な数
2	なし	なし	未処置対照、フローサイトメトリーベースライン

Gr.#	注射	目的または問われた質問
1	ImmTOR, 200 µg (i.p.)	ImmTOR注射の7日後のT細胞プロファイル
2	ラハマイシン, 可溶性, 200 µg (i.p.)	可溶性ラハマイシンの7日後のT細胞プロファイル, 群1と比較
3	なし	未処置対照, フローサイトメトリーベースライン

ImmTOR 日 -7 0 処理/フロー

図 13

【 図 1 4 A 】

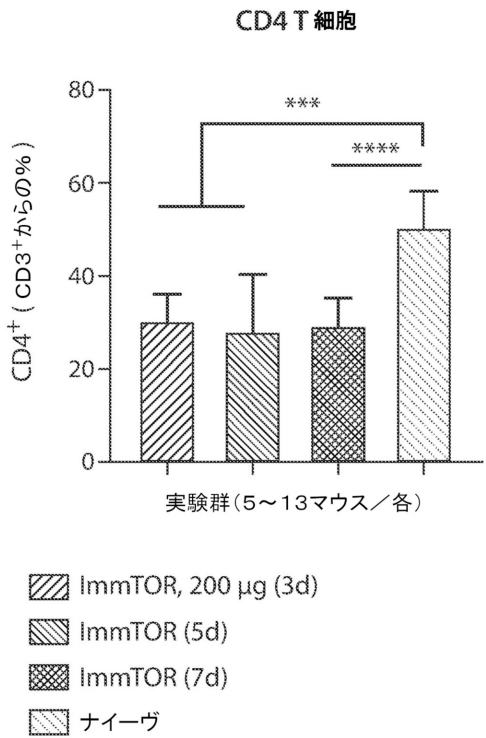


図 14A

10

20

30

40

50

【 図 1 4 B 】

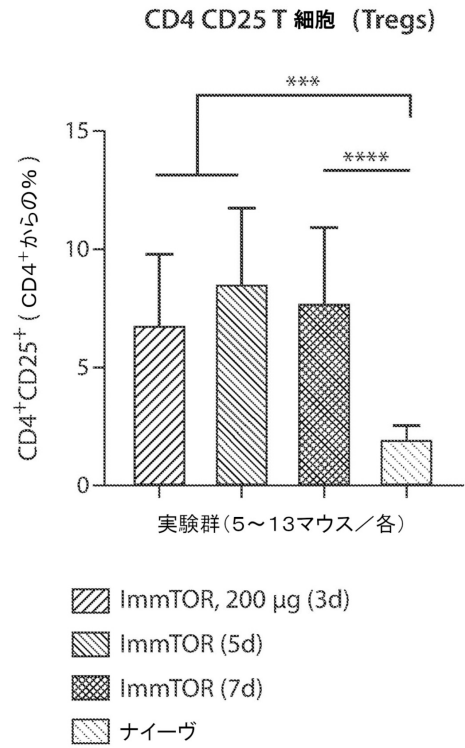


図 14B

【 図 1 4 C 】

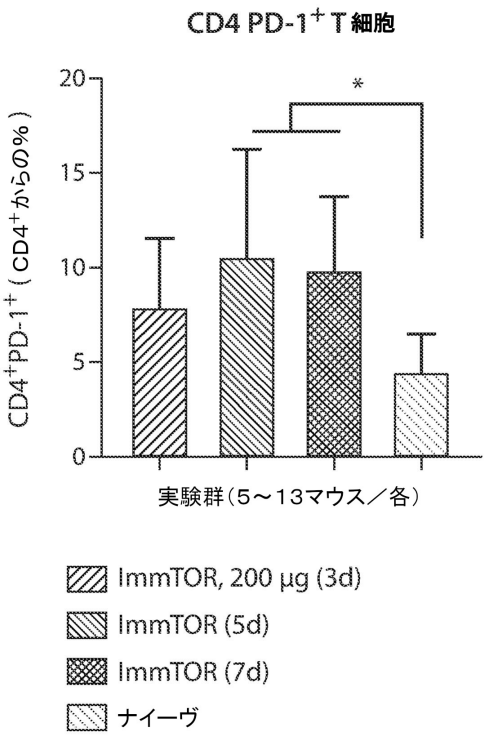


図 14C

【 図 1 5 】

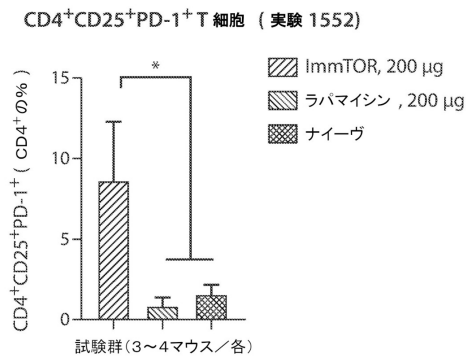


図 15A

【 図 1 6 A 】

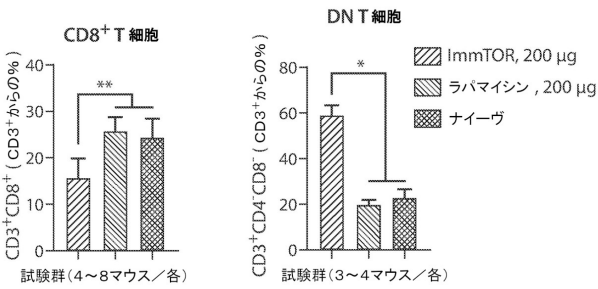


図 16A

CD4⁺CD25⁺PD-1⁺ T 細胞 (1541+1552, 7d)

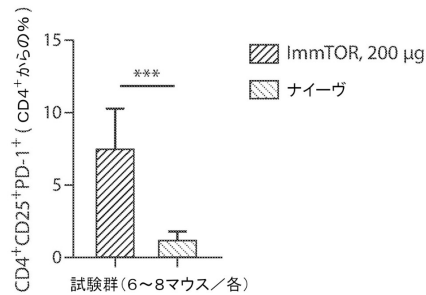


図 15B

10

20

30

40

50

【 図 1 6 B 】

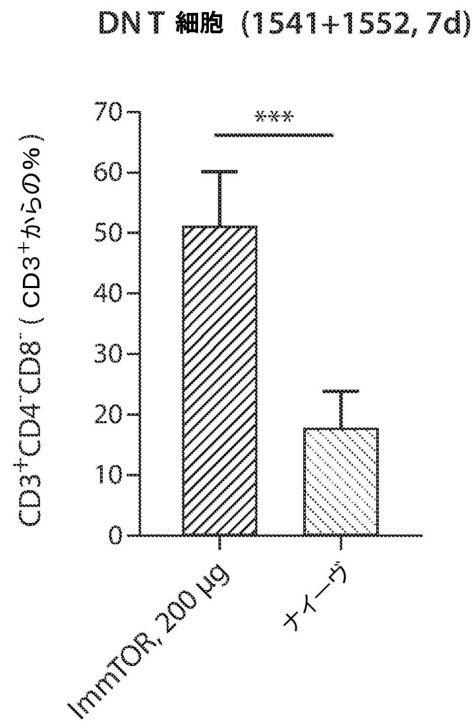


図 16B

【 図 1 7 】

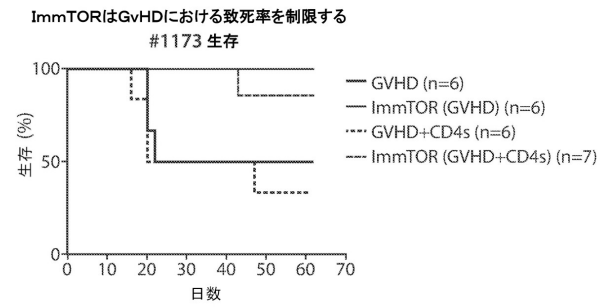


図 17

【 図 1 8 】

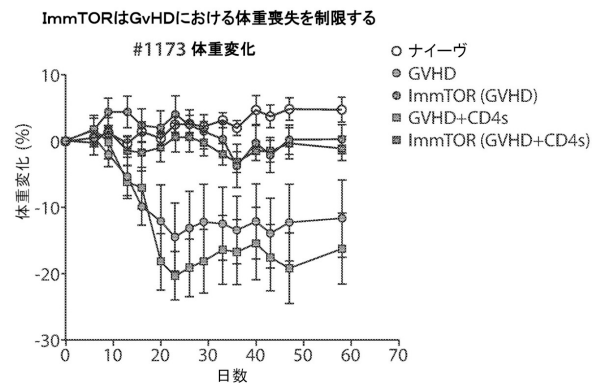


図 18

【 図 1 9 】

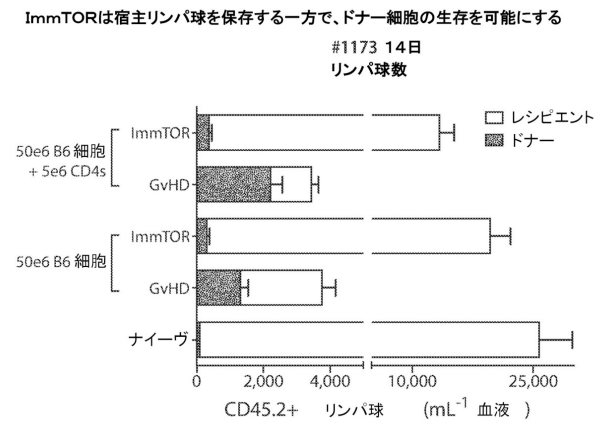


図 19

10

20

30

40

50

【 図 2 0 】

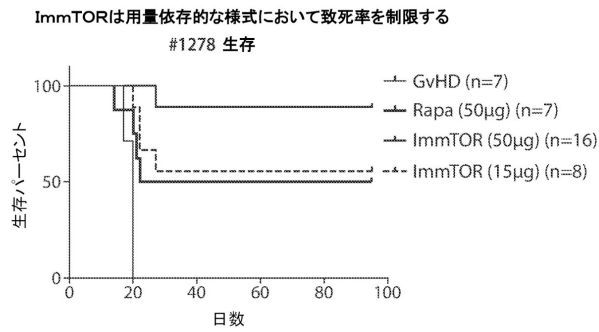


図 20

【 図 2 1 】

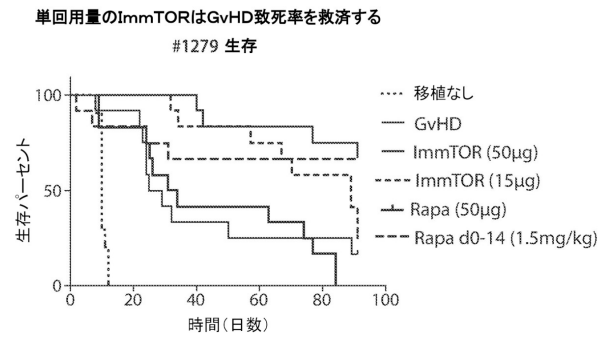


図 21

10

【 図 2 2 】

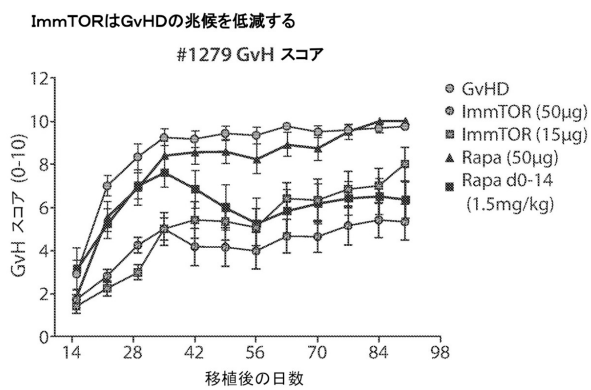


図 22

【 図 2 3 】

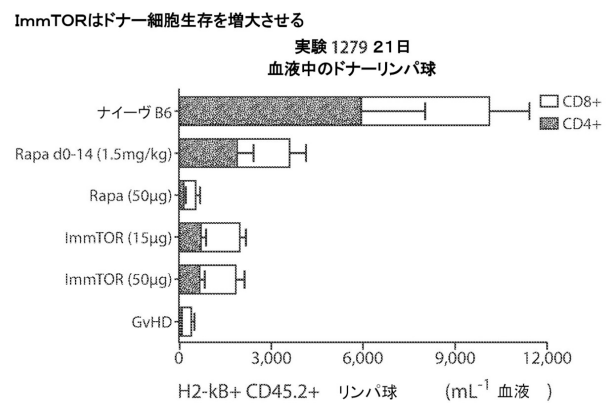


図 23

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/019927

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/436 A61K47/69 A61K47/59 A61K9/51 A61P37/06
ADD.

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)

A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/139212 A1 (CYTA THERAPEUTICS INC [US]) 17 August 2017 (2017-08-17) page 2 - page 3 page 14 - page 15; claims 1-47 -----	1-72
Y	US 2014/328854 A1 (MALDONADO ROBERTO A [US] ET AL) 6 November 2014 (2014-11-06) page 2, paragraph 0017 - page 14, paragraph 0137; claims 1-20, 30-48; examples 15-18 -----	1-72
Y	WO 2019/075360 A1 (SELECTA BIOSCIENCES INC [US]) 18 April 2019 (2019-04-18) page 13 - page 24 page 47 - page 58; claims 1-56 ----- -/-	1-72

☒ 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

"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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 May 2021

Date of mailing of the international search report

11/06/2021

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kling, Isabelle

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2021/019927

Q(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2012/276109 A1 (FRASER CHRISTOPHER [US] ET AL) 1 November 2012 (2012-11-01) page 1 - page 10; claims 1-10,19,21,35,37,40, 56 -----	1-72

1

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 2017139212	A1	17-08-2017	NONE
US 2014328854	A1	06-11-2014	
		AU 2014262155	A1 19-11-2015
		AU 2014262162	A1 19-11-2015
		AU 2014262163	A1 19-11-2015
		AU 2014262165	A1 19-11-2015
		AU 2014262166	A1 19-11-2015
		AU 2019250117	A1 07-11-2019
		AU 2020200065	A1 30-01-2020
		AU 2020200565	A1 13-02-2020
		AU 2020200824	A1 20-02-2020
		AU 2020203308	A1 09-07-2020
		BR 112015027279	A2 26-09-2017
		BR 112015027280	A2 25-07-2017
		BR 112015027281	A2 25-07-2017
		BR 112015027288	A2 25-07-2017
		BR 112015027291	A2 25-07-2017
		BR 112015027297	A8 30-01-2018
		CA 2910417	A1 06-11-2014
		CA 2910575	A1 06-11-2014
		CA 2910578	A1 06-11-2014
		CA 2910583	A1 06-11-2014
		CA 2910584	A1 06-11-2014
		CN 105263478	A 20-01-2016
		CN 105283175	A 27-01-2016
		CN 105307641	A 03-02-2016
		CN 105338968	A 17-02-2016
		CN 105338979	A 17-02-2016
		CN 105339012	A 17-02-2016
		CN 110251675	A 20-09-2019
		CN 110251676	A 20-09-2019
		CN 110639024	A 03-01-2020
		CN 110694077	A 17-01-2020
		CN 110841066	A 28-02-2020
		CN 110841067	A 28-02-2020
		CN 111053908	A 24-04-2020
		CN 111068061	A 28-04-2020
		CN 111686255	A 22-09-2020
		CN 111760025	A 13-10-2020
		DK 2991646	T3 11-01-2021
		EA 201592102	A1 31-10-2016
		EA 201592103	A2 29-04-2016
		EA 201592104	A2 31-05-2016
		EA 201592105	A1 31-10-2016
		EA 201592106	A2 31-05-2016
		EA 201592107	A1 31-10-2016
		EP 2991628	A1 09-03-2016
		EP 2991629	A1 09-03-2016
		EP 2991630	A2 09-03-2016
		EP 2991631	A1 09-03-2016
		EP 2991646	A2 09-03-2016
		EP 2991685	A2 09-03-2016
		EP 3763359	A1 13-01-2021
		HU E052599	T2 28-05-2021
		IL 242216	A 28-11-2019
		IL 242270	A 28-11-2019
		IL 242271	A 30-11-2020
		IL 242272	A 30-06-2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
		IL 242273 A	31-10-2018	
		IL 276205 A	29-04-2021	
		JP 6580558 B2	25-09-2019	
		JP 6760838 B2	23-09-2020	
		JP 6818549 B2	20-01-2021	
		JP 2016517889 A	20-06-2016	
		JP 2016517890 A	20-06-2016	
		JP 2016517891 A	20-06-2016	
		JP 2016518392 A	23-06-2016	
		JP 2016520051 A	11-07-2016	
		JP 2016524599 A	18-08-2016	
		JP 2019069964 A	09-05-2019	
		JP 2019089784 A	13-06-2019	
		JP 2020015741 A	30-01-2020	
		JP 2020045343 A	26-03-2020	
		JP 2020073488 A	14-05-2020	
		JP 2021073198 A	13-05-2021	
		KR 20160003212 A	08-01-2016	
		KR 20160003214 A	08-01-2016	
		KR 20160003215 A	08-01-2016	
		KR 20160003217 A	08-01-2016	
		KR 20160003219 A	08-01-2016	
		KR 20160003830 A	11-01-2016	
		US 2014328854 A1	06-11-2014	
		US 2014328921 A1	06-11-2014	
		US 2014328922 A1	06-11-2014	
		US 2014328923 A1	06-11-2014	
		US 2014328924 A1	06-11-2014	
		US 2014335186 A1	13-11-2014	
		US 2020069659 A1	05-03-2020	
		US 2020069660 A1	05-03-2020	
		US 2020078341 A1	12-03-2020	
		US 2020113874 A1	16-04-2020	
		US 2020360350 A1	19-11-2020	
		WO 2014179762 A1	06-11-2014	
		WO 2014179769 A2	06-11-2014	
		WO 2014179770 A1	06-11-2014	
		WO 2014179772 A2	06-11-2014	
		WO 2014179773 A2	06-11-2014	

WO 2019075360	A1	18-04-2019	AU 2018347583 A1	21-05-2020
			BR 112020007157 A2	24-09-2020
			CA 3078705 A1	18-04-2019
			CN 111542336 A	14-08-2020
			EP 3694543 A1	19-08-2020
			JP 2020536939 A	17-12-2020
			KR 20200086670 A	17-07-2020
			US 2019142974 A1	16-05-2019
			WO 2019075360 A1	18-04-2019

US 2012276109	A1	01-11-2012	AU 2012249401 A1	24-10-2013
			AU 2012249419 A1	24-10-2013
			AU 2012249493 A1	24-10-2013
			AU 2012249537 A1	24-10-2013
			AU 2012249540 A1	24-10-2013
			AU 2012249544 A1	24-10-2013
			AU 2012249550 A1	24-10-2013
			AU 2012249553 A1	24-10-2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
	AU	2012249567 A1	31-10-2013
	AU	2017203588 A1	22-06-2017
	AU	2017203655 A1	15-06-2017
	AU	2017203656 A1	15-06-2017
	AU	2017204317 A1	13-07-2017
	AU	2017204814 A1	27-07-2017
	AU	2017225163 A1	05-10-2017
	AU	2017244514 A1	02-11-2017
	AU	2017245278 A1	02-11-2017
	AU	2017245402 A1	02-11-2017
	AU	2019232928 A1	10-10-2019
	AU	2019232931 A1	10-10-2019
	AU	2019232934 A1	10-10-2019
	AU	2019232935 A1	17-10-2019
	AU	2019232938 A1	10-10-2019
	AU	2019240565 A1	17-10-2019
	AU	2020200252 A1	06-02-2020
	AU	2020200254 A1	06-02-2020
	AU	2020200446 A1	13-02-2020
	BR	112013027500 A2	10-01-2017
	BR	112013027508 A2	14-03-2017
	BR	112013027514 A2	14-02-2017
	BR	112013027517 A2	07-02-2017
	BR	112013027541 A2	10-01-2017
	CA	2834514 A1	01-11-2012
	CA	2834519 A1	01-11-2012
	CA	2834527 A1	01-11-2012
	CA	2834532 A1	01-11-2012
	CA	2834533 A1	01-11-2012
	CA	2834534 A1	01-11-2012
	CA	2834571 A1	01-11-2012
	CA	2834599 A1	01-11-2012
	CA	2834619 A1	01-11-2012
	CN	103491957 A	01-01-2014
	CN	103501786 A	08-01-2014
	CN	103501787 A	08-01-2014
	CN	103501812 A	08-01-2014
	CN	103501813 A	08-01-2014
	CN	103501820 A	08-01-2014
	CN	103517707 A	15-01-2014
	CN	103517716 A	15-01-2014
	CN	103533935 A	22-01-2014
	CN	104623666 A	20-05-2015
	CN	105999295 A	12-10-2016
	CN	107029213 A	11-08-2017
	CN	107126552 A	05-09-2017
	CN	107252481 A	17-10-2017
	CN	107252487 A	17-10-2017
	CN	107261123 A	20-10-2017
	CN	107261151 A	20-10-2017
	CN	107261154 A	20-10-2017
	CN	107320734 A	07-11-2017
	CN	107343959 A	14-11-2017
	CN	107670030 A	09-02-2018
	CN	107670054 A	09-02-2018
	CN	107693798 A	16-02-2018
	CN	107693799 A	16-02-2018
	CN	107837402 A	27-03-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		CN 107970440 A	01-05-2018
		DK 2701739 T3	13-07-2020
		EA 201391597 A1	30-09-2014
		EA 201391599 A1	30-09-2014
		EA 201391600 A1	30-09-2014
		EA 201391601 A1	30-09-2014
		EA 201391602 A1	30-04-2014
		EA 201391608 A1	30-09-2014
		EA 201391609 A1	30-09-2014
		EA 201391610 A1	30-09-2014
		EA 201391611 A1	30-09-2014
		EA 201692374 A2	30-06-2017
		EA 201790030 A1	29-09-2017
		EA 201790043 A1	29-09-2017
		EA 201790044 A1	29-09-2017
		EA 201790045 A1	29-09-2017
		EA 201790109 A1	29-09-2017
		EA 201791679 A1	28-09-2018
		EP 2701705 A2	05-03-2014
		EP 2701706 A2	05-03-2014
		EP 2701737 A1	05-03-2014
		EP 2701738 A2	05-03-2014
		EP 2701739 A1	05-03-2014
		EP 2704693 A1	12-03-2014
		EP 2704714 A2	12-03-2014
		EP 2704715 A2	12-03-2014
		EP 2704750 A2	12-03-2014
		EP 3679933 A1	15-07-2020
		EP 3682877 A1	22-07-2020
		EP 3682878 A1	22-07-2020
		EP 3760201 A1	06-01-2021
		ES 2806268 T3	17-02-2021
		HU E050142 T2	30-11-2020
		JP 6336900 B2	06-06-2018
		JP 6401609 B2	10-10-2018
		JP 6422773 B2	14-11-2018
		JP 6422774 B2	14-11-2018
		JP 6422775 B2	14-11-2018
		JP 6490964 B2	27-03-2019
		JP 6491879 B2	27-03-2019
		JP 6529531 B2	12-06-2019
		JP 6602536 B2	06-11-2019
		JP 6673893 B2	25-03-2020
		JP 6737725 B2	12-08-2020
		JP 6833625 B2	24-02-2021
		JP 2014513092 A	29-05-2014
		JP 2014513093 A	29-05-2014
		JP 2014513102 A	29-05-2014
		JP 2014514331 A	19-06-2014
		JP 2014514332 A	19-06-2014
		JP 2014514333 A	19-06-2014
		JP 2014514334 A	19-06-2014
		JP 2014514335 A	19-06-2014
		JP 2014517828 A	24-07-2014
		JP 2017114904 A	29-06-2017
		JP 2017122110 A	13-07-2017
		JP 2017122111 A	13-07-2017
		JP 2017122112 A	13-07-2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		JP 2017122113 A	13-07-2017
		JP 2017193568 A	26-10-2017
		JP 2017222668 A	21-12-2017
		JP 2018008929 A	18-01-2018
		JP 2018111687 A	19-07-2018
		JP 2019001810 A	10-01-2019
		JP 2019065033 A	25-04-2019
		JP 2019065035 A	25-04-2019
		JP 2019167350 A	03-10-2019
		JP 2020002140 A	09-01-2020
		JP 2020050658 A	02-04-2020
		JP 2020073496 A	14-05-2020
		KR 20140027360 A	06-03-2014
		KR 20140027361 A	06-03-2014
		KR 20140029468 A	10-03-2014
		KR 20140029469 A	10-03-2014
		KR 20140033065 A	17-03-2014
		KR 20140033066 A	17-03-2014
		KR 20140034202 A	19-03-2014
		KR 20140041505 A	04-04-2014
		KR 20140051171 A	30-04-2014
		KR 20190112211 A	02-10-2019
		KR 20190123796 A	01-11-2019
		KR 20200055145 A	20-05-2020
		KR 20200057789 A	26-05-2020
		KR 20200115655 A	07-10-2020
		KR 20210045525 A	26-04-2021
		US 2012276109 A1	01-11-2012
		US 2012276133 A1	01-11-2012
		US 2012276134 A1	01-11-2012
		US 2012276155 A1	01-11-2012
		US 2012276156 A1	01-11-2012
		US 2012276157 A1	01-11-2012
		US 2012276158 A1	01-11-2012
		US 2012276159 A1	01-11-2012
		US 2012276160 A1	01-11-2012
		US 2012294888 A1	22-11-2012
		US 2012301498 A1	29-11-2012
		US 2012301510 A1	29-11-2012
		US 2014199340 A1	17-07-2014
		US 2015320728 A1	12-11-2015
		US 2015320856 A1	12-11-2015
		US 2015320870 A1	12-11-2015
		US 2015320884 A1	12-11-2015
		US 2015328333 A1	19-11-2015
		US 2015335762 A1	26-11-2015
		US 2016022650 A1	28-01-2016
		US 2016030554 A1	04-02-2016
		US 2016030555 A1	04-02-2016
		US 2016243253 A1	25-08-2016
		US 2016256401 A1	08-09-2016
		US 2016279234 A1	29-09-2016
		US 2019076522 A1	14-03-2019
		US 2020101154 A1	02-04-2020
		US 2020101155 A1	02-04-2020
		WO 2012149247 A2	01-11-2012
		WO 2012149252 A2	01-11-2012
		WO 2012149255 A2	01-11-2012

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2021/019927

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		WO 2012149259 A1	01-11-2012
		WO 2012149265 A2	01-11-2012
		WO 2012149268 A1	01-11-2012
		WO 2012149282 A2	01-11-2012
		WO 2012149301 A2	01-11-2012
		WO 2012149393 A2	01-11-2012
		WO 2012149405 A2	01-11-2012
		WO 2012149411 A1	01-11-2012
		WO 2012149454 A2	01-11-2012

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/46 (2006.01)	A 6 1 K 47/46	
A 6 1 K 47/42 (2017.01)	A 6 1 K 47/42	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 62/981,606		
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 62/981,589		
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 62/981,584		
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 62/981,586		
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 PCT/US2020/028132		
(32)優先日 令和2年4月14日(2020.4.14)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(31)優先権主張番号 62/981,594		
(32)優先日 令和2年2月26日(2020.2.26)		
(33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)		
(81)指定国・地域 AP(BW,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,MC,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,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,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,T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW		
(特許庁注 : 以下のものは登録商標)		
1 . プルロニック		
2 . T R I T O N		
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 4 0、ケンブリッジ、ペンバートン ストリート 1 7 7、ユニット 1 3		
(72)発明者 キシモト、タカシ、ケイ		
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 2 0、レキシントン、クーリッジ アヴェニュー 4 6		
F ターム (参考) 4C076 AA65 CC07 EE16H EE19H EE20H EE24H EE26H EE30H EE41H EE56H		
4C084 AA17 MA05 MA38 NA05 ZB08		