(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-513847
(P2023-513847A)
(43)公表日　令和5年4月3日(2023.4.3)

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*35/545*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/545	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*47/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/02	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*47/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/12	４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*47/20*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/20	
Ａ６１Ｋ	*47/42*	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/42	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全30頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-549737(P2022-549737)
(86)(22)出願日　令和3年2月18日(2021.2.18)
(85)翻訳文提出日　令和4年9月28日(2022.9.28)
(86)国際出願番号　PCT/EP2021/054066
(87)国際公開番号　WO2021/165420
(87)国際公開日　令和3年8月26日(2021.8.26)
(31)優先権主張番号　2020900472
(32)優先日　令和2年2月19日(2020.2.19)
(33)優先権主張国・地域又は機関
オーストラリア(AU)
(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,
最終頁に続く

(71)出願人　516300656
メゾブラスト・インターナショナル・エスアーエールエル
スイス・１２１７・メラン・ルート・ドゥ・プレ－ボワ・２０・アカウンティング・アンド・マネジメント・サーヴィシズ・エスアー内
(74)代理人　100108453
弁理士　村山 靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広 信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部 達彦
(72)発明者　シルヴィウ・イテスク
オーストラリア・ヴィクトリア・３００
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　慢性移植片対宿主病の治療方法

(57)【要約】
本開示は、慢性移植片対宿主病の治療又は予防を必要とする対象において慢性移植片対宿主病を治療又は予防するための方法であって、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞（ＭＬＰＳＣ）を含む組成物を対象に投与することを含む、方法に関する。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療又は予防を必要とするヒト対象においてそれを行う方法であって、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞（ＭＬＰＳＣ）を含む組成物を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項２】
前記ＭＬＰＳＣが、凍結保存され、解凍されている、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ＭＬＰＳＣは、中間凍結保存ＭＬＰＳＣ集団から増殖された培養物である、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ＭＬＰＳＣが、少なくとも約５継代培養増殖される、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記ＭＬＰＳＣが、１００万個のＭＬＰＳＣ当たり少なくとも１３ｐｇのＴＮＦＲ１を発現する、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記ＭＬＰＳＣが、１００万個のＭＬＰＳＣ当たり約１３ｐｇ～約４４ｐｇのＴＮＦＲ１を発現する、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
前記培養増殖が、少なくとも２０の集団倍加を含む、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
前記培養増殖が、少なくとも３０の集団倍加を含む、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
前記対象が、ステロイド免疫抑制剤及び／又は生物学的療法に対して難治性である、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記対象が、治療の２８日後に少なくとも部分奏効を有する、請求項１～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
前記対象が、治療の少なくとも２８～９０日後に少なくとも部分奏効を有する、請求項１～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
部分奏効が、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる、請求項１０又は１１に記載の方法：
－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの皮膚特徴スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの消化管スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肝臓スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺症状スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺ＦＥＶ１スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの関節及び筋膜スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの生殖器スコアの減少。
【請求項１３】
部分奏効が、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる、請求項１０又は１１に記載の方法：

－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少。
【請求項１４】
前記ＭＬＰＳＣが静脈内投与される、請求項１～１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
前記ＭＬＰＳＣが、間葉系幹細胞（ＭＳＣ）である、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
前記ＭＬＰＳＣが同種である、請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
用量当たり10×10^{6}～2×10^{8}個の細胞を投与することを含む、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
用量当たり20×10^{6}～1×10^{7}個の細胞を投与することを含む、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１９】
前記対象が少なくとも２回の用量を受ける、請求項１７又は１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記対象が、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０回の用量を受ける、請求項１７又は１８に記載の方法。
【請求項２１】
最初の２回の用量が、２週間にわたって毎週投与される、請求項１９又は２０に記載の方法。
【請求項２２】
最初の２回の用量が、２週間毎に毎週投与される、請求項１９又は２０に記載の方法。
【請求項２３】
第３の用量及びその後の用量が、毎月投与される、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記組成物が、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を更に含む、請求項１～２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２５】
前記組成物が、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ（７０％）、ＤＭＳＯ（１０％）、ＨＳＡ（２５％）溶液を更に含み、前記ＨＳＡ溶液が、５％のＨＳＡ及び１５％の緩衝液を含む、請求項１～２３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２６】
前記組成物が、１ｍＬ当たり6.68×10^{6}個を超える生細胞を含む、請求項１～２５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】
本開示は、慢性移植片対宿主病の治療又は予防を必要とする対象において、慢性移植片対宿主病を治療又は予防するための方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
急性及び慢性移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）は、同種幹細胞移植の成功及び利用可能性を制限する主要な要因である免疫学的障害である。急性ＧｖＨＤ及び慢性ＧｖＨＤは両方とも、慢性疾患を引き起こし、宿主哺乳動物の死につながる可能性のある全身炎症反応と関連している。しかしながら、慢性ＧｖＨＤ（ｃＧｖＨＤ）は、過去数年間にわたって同種骨髄又は幹細胞移植の最も厄介な合併症となっている。

【０００３】
ｃＧｖＨＤは、急性ＧｖＨＤ（ａＧｖＨＤ）とは異なる。ａＧｖＨＤ及びｃＧｖＨＤが異なる病理学的プロセスを伴うことは周知であり、ａＧｖＨＤは主にＴｈ１／Ｔｈ１７によって駆動されるプロセスであり、強い炎症成分を有すると考えられているが、ｃＧｖＨＤはより多くの自己免疫及び線維性特徴を示す。
【０００４】
Ｂ細胞は、ｃＧｖＨＤの主要な因子として近年ますます認識されている。例えば、幹細胞移植後、ｃＧｖＨＤを有する患者は、明らかにＣＤ５＋Ｂ細胞の再構成が損なわれる。
【０００５】
難治性ｃＧｖＨＤを有する患者における間葉系幹細胞（ＭＳＣ）の試験では、多様な転帰が観察された。したがって、ｃＧｖＨＤ及び／又はその関連症状を有する患者において、新たな治療選択肢が必要とされるが、満たされていない治療的必要性が依然として存在する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００６】
本発明者らは驚くべきことに、慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）を有する対象において、凍結保存及び解凍された培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞の投与によって早期の疾患奏効（２８日目）を達成することができることを確認した。これらの間葉系前駆細胞又は幹細胞は、「既製品」を構成し、間葉系前駆細胞又は幹細胞ドナー及びｃＧｖＨＤ患者のＨＬＡマッチングの要件はない。
【０００７】
したがって、第１の例において、本開示は、慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療又は予防を必要とするヒト対象における慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療又は予防方法に関し、本方法は、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞（ＭＬＰＳＣ）を含む組成物を対象に投与することを含む。
【０００８】
ある例において、培養増殖ＭＬＰＳＣは、凍結保存され、解凍される。したがって、別の例において、本開示は、慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療又は予防を必要とするヒト対象における慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療又は予防方法に関し、本方法は、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞（ＭＬＰＳＣ）を含む組成物を対象に投与することを含み、培養増殖ＭＬＰＳＣは、凍結保存され、解凍される。
【０００９】
ある例において、ＭＬＰＳＣは、中間凍結保存ＭＬＰＳＣ集団から増殖される。別の例において、ＭＬＰＳＣは、少なくとも約５継代培養増殖される。
【００１０】
ある例において、ＭＬＰＳＣは、１００万個のＭＬＰＳＣ当たり少なくとも１３ｐｇのＴＮＦＲ１を発現する。ある例において、ＭＬＰＳＣは、１００万個のＭＬＰＳＣ当たり約１３ｐｇ～約４４ｐｇのＴＮＦＲ１を発現する。
【００１１】
別の例において、培養増殖は、少なくとも２０の集団倍加を含む。別の例において、培養増殖は、少なくとも３０の集団倍加を含む。
【００１２】
ある例において、対象は、ステロイド免疫抑制剤及び／又は生物学的療法に対して難治性である。別の例において、対象は、治療の２８日後に少なくとも部分奏効を有する。別の例において、対象は、治療の少なくとも２８～９０日後に少なくとも部分奏効を有する。ある例において、部分奏効は、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる：
－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、

－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの皮膚特徴スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの消化管スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肝臓スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺症状スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺ＦＥＶ１スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの関節及び筋膜スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの生殖器スコアの減少。

【００１３】

別の例において、部分奏効は、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる：

－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少。

【００１４】

別の例において、ＭＬＰＳＣは、静脈内に投与される。ある例において、ＭＬＰＳＣは間葉幹細胞（ＭＳＣ）である。別の例において、ＭＬＰＳＣは同種である。

【００１５】

別の例において、本開示の方法は、用量当たり10×10^{6}～2×10^{8}個の細胞を投与することを含む。別の例において、本開示の方法は、用量当たり20×10^{6}～1×10^{7}個の細胞を投与することを含む。別の例において、対象は、少なくとも２回の用量を受ける。別の例において、対象は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０回の用量を受ける。ある例において、最初の２回の用量は、２週間にわたって毎週投与される。別の例において、最初の２回の用量は、２週間毎に毎週投与される。別の例において、第３の用量及びその後の用量は、毎月投与される。

【００１６】

ある例において、組成物は、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を更に含む。別の例において、組成物は、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ（７０％）、ＤＭＳＯ（１０％）、ＨＳＡ（２５％）溶液を更に含み、このＨＳＡ溶液は、５％のＨＳＡ及び１５％の緩衝液を含む。

【００１７】

ある例において、組成物は、１ｍＬ当たり6.68×10^{6}個超の生細胞を含む。

【発明を実施するための形態】

【００１８】

本明細書全体を通して、特に別段の定めがない限り、又は文脈上別段の定めが必要でない限り、単一のステップ、物質の組成物、ステップの群、又は物質の組成物の群は、それらのステップ、物質の組成物、ステップの群、又は物質の組成物の群のうちの１つ及び複数（すなわち、１つ又はそれ以上）を包含するものとみなされるものとする。

【００１９】

当業者は、本明細書に記載される開示が、具体的に記載されるもの以外の変形及び修正が容易であることを理解するであろう。本開示は、全てのそのような変形及び修正を含むことが理解されるべきである。本開示はまた、本明細書において個別に又は集合的に言及又は示される全ての工程、特徴、組成物及び化合物、並びに上述の工程又は特徴のいずれか及び全ての組み合わせ又はいずれかの２つ以上を含む。

【００２０】

本開示は、例示のみを目的とする、本明細書に記載の特定の実施形態によって範囲が限定されるものではない。機能的に等価な製品、組成物、及び方法は、本明細書に記載されるように、明らかに本開示の範囲内である。

【００２１】

本明細書に開示される任意の実施例は、特に明記しない限り、任意の他の実施例に準用

されるものとする。
【００２２】
別段に具体的に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、当業者（例えば、細胞培養、分子遺伝学、幹細胞分化、免疫学、免疫組織化学、タンパク質化学、及び生化学における）によって一般的に理解されるものと同じ意味を有するものと理解されるべきである。
【００２３】
別段の指示がない限り、本開示で利用される外科的技法は、当業者に周知の標準的な手順である。
【００２４】
間葉系幹細胞又は前駆細胞の集団を得る及び濃縮する方法は、当該技術分野で既知である。例えば、間葉系幹細胞又は前駆細胞の富化集団は、間葉系幹細胞又は前駆細胞上で発現される細胞表面マーカーの使用に基づくフローサイトメトリー及び細胞ソート手順の使用によって得ることができる。
【００２５】
本明細書に引用又は参照される全ての文書、及び本明細書に引用される文書に引用又は参照される全ての文書、並びに本明細書に言及される任意の製品の製造業者の指示、説明、製品仕様、及び製品シート、又は参照により本明細書に組み込まれる任意の文書は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。
【００２６】
選択された定義
用語「及び／又は」、例えば「Ｘ及び／又はＹ」は、「Ｘ及びＹ」又は「Ｘ又はＹ」のいずれかを意味するものと理解され、両方の意味又はいずれかの意味の明示的なサポートを提供するものと理解されなければならない。
【００２７】
本明細書で使用される場合、特段の記載がない限り、約という用語は、指定された値の＋／－１０％、より好ましくは＋／－５％を指す。
【００２８】
本明細書全体を通して、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」又は「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」又は「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」などの変化形は、記載された要素、整数若しくはステップ、又は要素、整数又はステップの群の包含を意味するが、任意の他の要素、整数若しくはステップ、又は要素、整数若しくはステップの群の除外を意味するものではないことが理解されるであろう。
【００２９】
本明細書で使用される場合、単数形の「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、文脈により別様に指示されない限り、単数及び複数の参照を含む。
【００３０】
「単離された」又は「精製された」とは、天然環境の少なくともいくつかの構成要素から分離された細胞を意味する。この用語は、細胞をその天然環境からの大まかな物理的分離（例えば、ドナーからの除去）を含む。「単離された」という用語は、例えば、解離などの直接的な隣接細胞との細胞の関係の変化を含む。「単離された」という用語は、組織切片内にある細胞を指すものではない。細胞の集団を指すために使用される場合、「単離された」という用語は、本開示の単離された細胞の増殖から生じる細胞の集団を含む。
【００３１】
「継代（ｐａｓｓａｇｅ）」、「継代（ｐａｓｓａｇｉｎｇ）」又は「継代培養」という用語は、細胞数が継続的に増加することができるように、細胞を生存させ、長期間培養条件下で増殖させるために使用される既知の細胞培養技術を指すために本開示の文脈で使用される。細胞株の継代培養を受ける度合いは、「継代数」として表されることが多く、これは、一般に、細胞が継代培養された回数を指して使用される。ある例において、１回の継代は、非接着細胞を除去し、接着性間葉系前駆細胞又は幹細胞を残すことを含む。そ

のような間葉系前駆細胞又は幹細胞は、次いで、基質又はフラスコから（例えば、トリプシン又はコラゲナーゼ等のプロテアーゼを使用することによって）解離することができ、培地を添加することができ、任意の洗浄（例えば、遠心分離による）を行うことができ、次いで、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、合計でより大きな表面積を含有する１つ以上の培養容器に再播種（ｒｅ－ｐｌａｔｅｄ）又は再播種（ｒｅｓｅｅｄｅｄ）することができる。間葉系前駆細胞又は幹細胞は次いで、培養中で拡大し続けることができる。別の例において、非接着細胞を除去する方法としては、非酵素処理のステップ（例えば、ＥＤＴＡによる）が挙げられる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、コンフルエンス又はコンフルエンス付近で継代される（例えば、約７５％～約９５％のコンフルエンス）。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、１ｍｌ培養培地中約１０％、約１５％、又は約２０％の細胞濃度で播種される。

【００３２】

「培地（ｍｅｄｉｕｍ）」又は「培地（ｍｅｄｉａ）」という用語は、本開示の文脈で使用される場合、培養物中の細胞を取り巻く環境の構成要素を含む。培地は、細胞の増殖に貢献する及び／又は適切な条件を提供することが想定される。培地は、固体、液体、気体、又は相及び材料の混合物であり得る。培地は、液体成長培地、並びに細胞成長を維持しない液体培地を含むことができる。例示的な気体培地としては、ペトリ皿又は他の固体若しくは半固体支持体上で成長した細胞が曝露される気相が挙げられる。

【００３３】

「移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）」は、同種骨髄移植又は幹細胞移植の成功及び利用可能性を制限する主要な要因である免疫学的障害である。ＧｖＨＤは、急性（ａＧｖＨＤ）又は慢性（ｃＧｖＨＤ）形態で生じる。急性ＧｖＨＤは通常、骨髄又は幹細胞移植後１００日以内に現れる。慢性ＧｖＨＤは、一般に、ａＧｖＨＤ（移植後１００日超）よりも遅く現れ、自己免疫疾患のいくつかの特徴を有する。慢性ＧｖＨＤは、ａＧｖＨＤの解決に続いて新たに、又はαＧｖＨＤの延長のいずれかとして発生し得る。慢性ＧｖＨＤは、広範囲にわたる皮膚発疹、痛みを伴う口内潰瘍、息切れ、四肢及び関節の痛みを含む、しばしば衰弱する複数の症状を引き起こす可能性がある。ある例において、ｃＧｖＨＤを有する患者は、ＣＤ５＋Ｂ細胞の再構成が損なわれる。ある例において、ｃＧｖＨＤは、ステロイド療法に対して難治性である。ある例において、ｃＧｖＨＤは、生物学的療法に対して難治性である。ある例において、ｃＧｖＨＤは、ステロイド療法及び生物学的療法に対して難治性である。

【００３４】

本明細書で使用される場合、「治療すること」、「治療する」又は「治療」という用語は、間葉系幹細胞若しくは前駆細胞の集団及び／又はその後代及び／又はそれらに由来する可溶性因子を投与し、それによって、ｃＧｖＨＤの少なくとも１つの症状を低減又は排除することを含む。ある例において、治療は、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞の集団を投与することを含む。ある例において、治療が開始された後、治療は部分奏効を誘導する。ある例において、部分奏効は、治療が開始されてから２８日後に誘導される。ある例において、部分奏効は、治療が開始されてから少なくとも２８日後に誘導される。ある例において、部分奏効は、治療が開始されてから少なくとも３０日後に誘導される。ある例において、部分奏効は、治療が開始されてから少なくとも２ヶ月後に誘導される。別の例において、部分奏効は、治療が開始されてから少なくとも３ヶ月後に誘導される。別の例において、部分奏効は、治療が開始されてから２８～５６日後に誘導される。別の例において、部分奏効は、２回の用量後に誘導される。別の例において、部分奏効は、毎週１回投与された２回の用量の後に誘導される。別の例において、部分奏効は、２週間毎に毎週１回投与された２回の用量の後に誘導される。別の例において、部分奏効は、３回以上の用量後に誘導される。

【００３５】

ある例において、部分奏効は、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる。

－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの皮膚特徴スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの消化管スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肝臓スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺症状スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの肺ＦＥＶ１スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの関節及び筋膜スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの生殖器スコアの減少。

【００３６】

ある例において、部分奏効は、少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少によって特徴付けられる。別の例において、部分奏効は、少なくとも１つの点における口スコアの減少によって特徴付けられる。別の例において、部分奏効は、少なくとも１つの点における眼スコアの減少によって特徴付けられる。これらの例において、スコアは、ＧｖＨＤについてのＮＩＨコンセンサス基準２０１４を使用して得ることができる（例えば、以下の実施例のセクションを参照されたい）。

【００３７】

別の例において、部分奏効は、以下のうちの１つ以上又は全てによって特徴付けられる：

－少なくとも１ポイントの皮膚％ＢＳＡスコアの減少、
－少なくとも１ポイントの口スコアの減少、
－少なくとも１ポイントの眼スコアの減少。

【００３８】

本明細書で使用される場合、「予防」又は「予防すること」という用語は、間葉系幹細胞若しくは前駆細胞の集団及び／若しくはその後代並びに／又はそれに由来する可溶性因子を投与し、それによってｃＧｖＨＤの少なくとも１つの症状の発生を停止させるか又は阻害することを含む。

【００３９】

ＧｖＨＤを特徴付けるための様々な分類体系がある（Ｌｅｅ，Ｓ．，（２０１７）Ｂｌｏｏｄ．，１２９（１）：３０－３７）。ある例において、ＮＩＨコンセンサス基準２０１４は、本明細書に開示される転帰のスコア付けに使用することができる（Ｊａｇａｓｉａ ｅｔ ａｌ．，（２０１５）Ｂｉｏｌ Ｂｌｏｏｄ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ．，２１：３８９－４０１）。ＮＩＨコンセンサス基準２０１４の構成要素を次の表に示す。

【表１－１】

ｃＧｖＨＤの臓器スコア

組織	スコア０	スコア１	スコア２	スコア３
皮膚%BSA[1]	BSAは関与していない	1~18%のBSA	19~50%のBSA	>50%BSA
皮膚特徴	硬化性特徴なし	該当なし	表面的な硬化性の特徴があるが、「隠れている」わけではない	深部硬化性特徴、「隠れている」、可動性障害、潰瘍
口	症状なし	軽度の症状で、疾患の兆候があるが、経口摂取を著しく制限しない	経口摂取が部分的に制限された疾患徴候を伴う中等度の症状	経口摂取に大きな制限がある疾患徴候を伴う重篤な症状
眼	症状なし	ADLに影響を及ぼさない軽度のドライアイ症状(潤滑点眼液の必要量が3回/日以下)	ADLに部分的に影響を及ぼす中等度のドライアイ症状(潤滑点眼液の必要量が3回/日超又は涙点プラグを必要とする)で、乾性角結膜炎(KCS)に起因する新しい視力障害がない	ADLに著しい影響を及ぼす重度のドライアイ症状(痛みを緩和するための特別な眼鏡)、又は眼の症状又は乾性角結膜炎(KCS)に起因する視力喪失のために働くことができない
GI管	症状なし	著しい体重減少を伴わない症状(<5%)	3ヶ月以内の軽度から中等度の体重減少(5~15%)又は日常生活に著しい干渉を伴わない中等度の下痢に関連する症状	3ヶ月以内の著しい体重減少(>15%)を伴う症状、ほとんどのカロリー需要に栄養補助食品を必要とする、又は食道拡張又は日常生活に著しい干渉を伴う重度の下痢

【表１－２】

肝臓	正常な総ビリルビン及びALT 又はAP<3xULN	ALT≧3~5xULN 又はAP≧3xULN の正常な総ビリルビン	総ビリルビン上昇であるが≦3mg/dL 又はALT>5xULN	総ビリルビン上昇であるが 3mg/dL 超
肺症状スコア	症状なし	軽度の症状(1歩昇った後の息切れ)	中等度の症状(平らな地面を歩いた後の息切れ)	重篤な症状(安静時に息切れ)、O2 が必要)
肺の肺スコア	FEV1≧80%	FEV1 60~79%	FEV1 40~59%	FEV1≦39%
関節及び筋膜	症状なし	腕及び脚の軽度の引き締まり、正常又は軽度の可動域の減少、及びADL に影響を与えない	腕又は脚の圧迫感又は関節収縮、筋膜炎に起因すると考えられる紅斑、運動範囲の中等度の減少、及びADL の軽度から中等度の制限	可動域が著しく減少し、ADL が著しく制限されている収縮(靴、ボタンシャツ、ドレスシェルフなどを結ぶことができない)
生殖器[2]	兆候なし	軽度の徴候及び女性(検査時の不快感の有無にかかわらず)	中等度の徴候があり、検査時に不快感の兆候がある可能性がある	症状の有無にかかわらず重篤な兆候
その他の特徴[3]	GVHD なし	軽度	中等度	重度

【００４０】

ある例において、部分奏効は、上記の表からの臓器固有のＮＩＨコンセンサス基準２０１４スコアの１ポイント以上の減少である。したがって、ある例において、治療は、皮膚％ＢＳＡスコアの１ポイント以上の減少を誘発する。別の例において、治療は、口スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、眼スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、皮膚特徴スコアの１ポイント以上の減少を誘発する。別の例において、治療は、消化管スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、肝臓スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、肺症状スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、肺ＦＥＶ１スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は、関節及び筋膜スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。別の例において、治療は生殖器スコアの１ポイント以上の減少を誘導する。

【００４１】

ある例において、治療は、治療が開始された後に完全奏効を誘導する。ある例において、完全奏効は、治療が開始されてから２８日後に誘導される。ある例において、完全奏効は、治療が開始されてから、少なくとも２８日後に誘導される。ある例において、完全奏効は、治療が開始されてから少なくとも３０日後に誘導される。ある例において、完全奏効は、治療が開始されてから少なくとも２ヶ月後に誘導される。別の例において、完全奏

効は、治療が開始されてから少なくとも３ヶ月後に誘導される。別の例において、完全奏効は、治療が開始されてから２８～５６日後に誘導される。別の例において、完全奏効は、２回の用量の後に誘導される。別の例において、完全奏効は、毎週１回投与された２回の用量の後に誘導される。別の例において、完全奏効は、２週間毎に毎週１回投与された２回の用量の後に誘導される。別の例において、完全奏効は、３回以上の用量後に誘導される。

【００４２】

ある例において、本開示の方法は、対象におけるｃＧｖＨＤ疾患進行又は疾患合併症を阻害する。対象におけるｃＧｖＨＤ疾患進行又は疾患合併症の「阻害」は、対象におけるｃＧｖＨＤ進行及び／又は疾患合併症を予防又は低減することを意味する。

【００４３】

本明細書で使用される「対象」という用語は、ヒト対象を指す。例えば、対象は、成人であってもよい。別の例において、対象は、小児であってもよい。別の例において、対象は、青少年であってもよい。「対象」、「患者」、又は「個体」などの用語は、文脈において、本開示において互換的に使用することができる用語である。

【００４４】

本開示に従って治療した対象は、ｃＧｖＨＤを示す症状を有し得る。例えば、対象は、中等度又は重度のｃＧｖＨＤを有し得る。例示的な症状としては、ドライアイ、＞１９％ＢＳＡ、＞５０％ＢＳＡ、斑点状丘疹皮疹／紅斑、丘疹鱗屑性病変／魚鱗癬、色素沈着、経口摂取の部分的又は主要な制限、下痢、総ビリルビンの上昇、ＦＥＶ１の低下、及び関節の緊張又は痛みが挙げられる。

【００４５】

ある例において、対象は、以前に少なくとも１つの抗ＴＮＦ療法に失敗したことがある。ある例において、対象は、生物学的療法に対する禁忌を有する。別の例において、対象は、以前に少なくとも１つのステロイド療法に失敗したことがある。

【００４６】

別の例において、対象は、９０日間超ＧｖＨＤを有している。別の例において、対象は、１００日間超ＧｖＨＤを有している。

【００４７】

本明細書で使用される場合、用語「遺伝子改変されていない」は、核酸によるトランスフェクションによって改変されていない細胞を指す。疑問を避けるために、本開示の文脈において、Ａｎｇ１をコードする核酸でトランスフェクトされた間葉系前駆細胞又は幹細胞は、遺伝子改変されたものとみなされる。

【００４８】

間葉系前駆細胞

本明細書で使用される場合、「間葉系前駆細胞又は幹細胞（ＭＬＰＳＣ）」という用語は、多能性を維持しながら自己再生能力を有し、間葉系、例えば、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、間質細胞、線維芽細胞及び腱、又は間胚葉由来、例えば、肝細胞、神経細胞及び上皮細胞のいずれかの多数の細胞型に分化する能力を有する未分化多能性細胞を指す。疑問を避けるために、「間葉系前駆細胞」は、骨細胞、軟骨細胞、筋肉細胞及び脂肪細胞、並びに線維性結合組織などの間葉系細胞に分化し得る細胞を指す。

【００４９】

「間葉系前駆細胞又は幹細胞」という用語は、親細胞及びそれらの未分化後代の両方を含む。この用語はまた、間葉系前駆細胞、多能性間質細胞、間葉系幹細胞（ＭＳＣ）、血管周囲間葉系前駆細胞、及びそれらの未分化後代を含む。

【００５０】

間葉系前駆細胞又は幹細胞は、自己、同種、異種、同系、又は同質遺伝的であり得る。自己細胞を、それらが再移植される同じ個体から単離する。同種細胞は、同じ種のドナーから単離される。異種細胞は、別の種のドナーから単離される。同系、又は同質遺伝的細胞は、双子、クローン、又は高度に同血統繁殖系の研究動物モデルなどの遺伝的に同一の

生物から単離される。

【００５１】

ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、同種である。ある例において、同種間葉系前駆細胞又は幹細胞は、培養増殖され、凍結保存される。

【００５２】

間葉系前駆細胞又は幹細胞は、主に骨髄に存在するが、例えば、臍帯血及び臍帯、成人末梢血、脂肪組織、小梁骨及び歯髄を含む多様な宿主組織に存在することも示されている。これらはまた、皮膚、脾臓、膵臓、脳、腎臓、肝臓、心臓、網膜、脳、毛包、腸、肺、リンパ節、胸腺、靭帯、腱、骨格筋、真皮、及び骨膜に見られ、中胚葉及び／又は内胚葉及び／又は外胚葉などの生殖細胞株に分化することができる。したがって、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、脂肪、骨、軟骨、弾性、筋肉、及び線維性結合組織を含むがこれらに限定されない多数の細胞型に分化することができる。これらの細胞が入る特定の系統コミットメント及び分化経路は、機械的影響及び／又は成長因子、サイトカイン、及び／又は宿主組織によって確立される局所微小環境条件などの内因性生物活性因子からの様々な影響に依存する。

【００５３】

用語「濃縮された」、「濃縮」、又はそれらの変形は、細胞の未処理の集団（例えば、その天然環境における細胞）と比較した場合に、１つの特定の細胞タイプの割合又は特定の細胞タイプの数の割合が増加する細胞の集団を説明するために本明細書で使用される。一例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞を濃縮した集団は、少なくとも約０．１％又は０．５％又は１％又は２％又は５％又は１０％又は１５％又は２０％又は２５％又は３０％又は５０％又は７５％の間葉系前駆細胞又は幹細胞を含む。この点に関して、「間葉系前駆細胞又は幹細胞のために濃縮された細胞の集団」という用語は、「Ｘ％の間葉系前駆細胞又は幹細胞を含む細胞の集団」という用語を明示的にサポートするものとみなされ、Ｘ％は、本明細書に記載の割合である。いくつかの例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、クローン形成コロニーを形成することができ、例えば、ＣＦＵ－Ｆ（線維芽細胞）又はそのサブセット（例えば、５０％又は６０％又は７０％又は７０％又は９０％又は９５％）は、この活性を有することができる。

【００５４】

本開示のある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、間葉系幹細胞（ＭＳＣ）である。ＭＳＣは、均一な組成物であり得るか、又はＭＳＣを濃縮した混合細胞集団であり得る。均質なＭＳＣ組成物は、接着性骨髄細胞又は骨膜細胞を培養することによって得てもよく、ＭＳＣは、独自のモノクローナル抗体で識別される特定の細胞表面マーカーによって識別されてもよい。ＭＳＣを濃縮した細胞集団を得るための方法は、例えば、米国特許第５，４８６，３５９号に記載されている。ＭＳＣの代替供給源には、限定されないが、血液、皮膚、臍帯血、筋肉、脂肪、骨、及び軟骨周囲が含まれる。ある例において、ＭＳＣは同種である。ある例において、ＭＳＣは、凍結保存される。ある例において、ＭＳＣは、培養増殖され、凍結保存される。

【００５５】

別の例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、ＣＤ２９＋、ＣＤ５４＋、ＣＤ７３＋、ＣＤ９０＋、ＣＤ１０２＋、ＣＤ１０５＋、ＣＤ１０６＋、ＣＤ１６６＋、ＭＨＣ１＋ＭＳＣである。

【００５６】

単離又は濃縮された間葉系前駆細胞又は幹細胞は、培養によってインビトロで増殖することができる。単離又は濃縮された間葉系前駆細胞又は幹細胞は、凍結保存され、解凍され、その後、培養によってインビトロで増殖され得る。

【００５７】

一例において、単離又は濃縮された間葉系前駆細胞又は幹細胞を、５０，０００個の生細胞／ｃｍ^{2}で、例えば、５％ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）及びグルタミンを補充したα最小必須培地（αＭＥＭ）の培地（無血清又は血清補充）中に播種し、３７℃、２０％O_2で

一晩培養容器に付着させる。その後、必要に応じて培地を交換及び／又は変更し、細胞を更に６８～７２時間、３７℃、５％O_2で培養する。

【００５８】

当業者に理解されるように、培養された間葉系前駆細胞又は幹細胞は、インビボでの細胞とは表現型が異なる。例えば、一実施形態において、それらは、以下のマーカー、ＣＤ４４、ＮＧ２、ＤＣ１４６及びＣＤ１４０ｂのうちの１つ以上を発現する。培養された間葉系前駆細胞又は幹細胞はまた、インビボの細胞と生物学的に異なり、インビボのほとんど非サイクル（静止）細胞と比較して高い増殖速度を有する。

【００５９】

一例において、細胞集団は、選択可能な形態のＳＴＲＯ－１＋細胞を含む細胞調製物から濃縮される。この点で、「選択可能な形態」という用語は、細胞が、ＳＴＲＯ－１＋細胞の選択を可能にするマーカー（例えば、細胞表面マーカー）を発現することを意味すると理解されるであろう。マーカーはＳＴＲＯ－１であっても、なくてもよい。例えば、本明細書に記載及び／又は例示されるように、ＳＴＲＯ－２及び／又はＳＴＲＯ－３（ＴＮＡＰ）及び／又はＳＴＲＯ－４及び／又はＶＣＡＭ－１及び／又はＣＤ１４６及び／又は３Ｇ５を発現する細胞（例えば、間葉系前駆細胞）もまた、ＳＴＲＯ－１を発現する（ＳＴＲＯ－１ｂｒｉｇｈｔであり得る）。したがって、細胞がＳＴＲＯ－１＋であるという指標は、細胞がＳＴＲＯ－１発現のみによって選択されることを意味しない。一例において、細胞は、少なくともＳＴＲＯ－３発現、例えば、それらはＳＴＲＯ－３＋（ＴＮＡＰ＋）であることに基づいて選択される。

【００６０】

細胞又はその集団の選択への言及は、特定の組織源からの選択を必ずしも必要としない。本明細書に記載されるように、ＳＴＲＯ－１＋細胞は、多種多様な供給源から選択するか、又は単離するか、又は濃縮することができる。とはいえ、いくつかの例において、これらの用語は、ＳＴＲＯ－１＋細胞（例えば、間葉系前駆細胞）からの任意の組織、又は血管化組織、又はペリサイト（例えば、ＳＴＲＯ－１＋ペリサイト）を含む組織、又は本明細書に列挙される組織のうちのいずれか１つ以上を含む任意の組織からの選択のための支持を提供する。

【００６１】

一例において、本開示において使用される細胞は、ＴＮＡＰ＋、ＶＣＡＭ－１＋、ＴＨＹ－１＋、ＳＴＲＯ－２＋、ＳＴＲＯ－４＋（ＨＳＰ－９０β）、ＣＤ４５＋、ＣＤ１４６＋、３Ｇ５＋、又はこれらの任意の組み合わせからなる群から個別に又は集合的に選択される１つ以上のマーカーを発現する。

【００６２】

「個別に」とは、本開示が、列挙されたマーカー又はマーカーの群を個別に包含することを意味し、個々のマーカー又はマーカーの群が本明細書に個別に列挙されない場合があるにもかかわらず、添付の特許請求の範囲は、そのようなマーカー又はマーカーの群を互いに個別にかつ分割可能に定義し得る。

【００６３】

「集合的に」とは、本開示が、列挙されたマーカー又はマーカーの群の任意の数又は組み合わせを包含することを意味し、かかるマーカー又はマーカーの群の数又は組み合わせが本明細書に具体的に列挙されていない場合があるにもかかわらず、添付の特許請求の範囲は、かかる組み合わせ又はサブ組み合わせを、マーカー又はマーカーの群の任意の他の組み合わせから別々にかつ分割可能に定義し得る。

【００６４】

本明細書で使用される場合、「ＴＮＡＰ」という用語は、組織非特異的アルカリホスファターゼの全てのアイソフォームを包含することが意図される。例えば、この用語は、肝臓アイソフォーム（ＬＡＰ）、骨アイソフォーム（ＢＡＰ）、及び腎臓アイソフォーム（ＫＡＰ）を包含する。一例において、ＴＮＡＰはＢＡＰである。一例において、本明細書で使用されるＴＮＡＰは、ブダペスト条約の規定に基づいて、預託アクセション番号ＰＴ

Ａ－７２８２として２００５年１２月１９日にＡＴＣＣに預託されたハイブリドーマ細胞株によって産生されたＳＴＲＯ－３抗体に結合することができる分子を指す。

【００６５】

更に、一例において、ＳＴＲＯ－１＋細胞は、クローン原性ＣＦＵ－Ｆを生じさせることができる。

【００６６】

一例において、かなりの割合のＳＴＲＯ－１＋細胞は、少なくとも２つの異なる生殖系列に分化することが可能である。ＳＴＲＯ－１＋細胞がコミットされ得る系統の非限定的な例としては、骨前駆細胞、胆管上皮細胞及び肝細胞について多能性である肝細胞前駆体、乏突起膠細胞及び星状細胞に進行するグリア細胞前駆体を生成することができる神経制限細胞、ニューロンに進行するニューロン前駆体、心筋及び心筋細胞の前駆体、膵臓β細胞株を分泌するグルコース応答性インスリンが挙げられる。他の系統には、象牙芽細胞、象牙質産生細胞及び軟骨細胞、並びに以下：網膜色素上皮細胞、線維芽細胞、角質細胞等の皮膚細胞、樹状細胞、毛包細胞、腎管上皮細胞、平滑及び骨格筋細胞、精巣前駆細胞、血管内皮細胞、腱、靭帯、軟骨、脂肪細胞、線維芽細胞、骨髄間質、心筋、平滑筋、骨格筋、周囲細胞、血管細胞、上皮細胞、神経膠細胞、神経細胞、星状細胞、及び少突起膠細胞の前駆細胞が含まれるが、これらに限定されない

【００６７】

ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、単一のドナー、又は複数のドナーから得られ、ドナー試料又は間葉系前駆細胞又は幹細胞はその後プールされ、次いで培養増殖される。

【００６８】

本開示に包含される間葉系前駆細胞又は幹細胞は、対象に投与する前に凍結保存されてもよい。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、対象に投与する前に培養増殖され、凍結保存される。

【００６９】

ある例において、本開示は、間葉系前駆細胞又は幹細胞、及びその後代、そこから誘導される可溶性因子、並びに／又はそこから単離される細胞外小胞を包含する。別の例において、本開示は、間葉系前駆細胞又は幹細胞及びそれらから単離された細胞外小胞を包含する。例えば、細胞培養培地への細胞外小胞の分泌に好適な条件下で、一定期間、本開示の間葉系前駆細胞又は幹細胞を培養増殖することが可能である。分泌された細胞外小胞は、その後、治療に使用するための培養培地から得ることができる。

【００７０】

本明細書で使用される「細胞外小胞」という用語は、通常細胞から放出され、約３０ｎｍ～最大で１０ミクロンのサイズの範囲であるが、典型的には、２００ｎｍ未満のサイズである脂質粒子を指す。それらは、タンパク質、核酸、脂質、代謝産物、又は放出細胞（例えば、間葉系幹細胞；ＳＴＲＯ－１$^{+}$細胞）由来の細胞小器官を含有することができる。

【００７１】

「エクソソーム」という用語は、本明細書で使用する場合、概して、約３０ｎｍ～約１５０ｎｍのサイズであり、それらが細胞膜に輸送されて放出される哺乳類細胞のエンドソーム区画に由来する細胞外小胞のタイプを指す。これらは、核酸（例えば、ＲＮＡ、マイクロＲＮＡ）、タンパク質、脂質、及び代謝産物を含み得、１つの細胞から分泌され、他の細胞に取り込まれてそれらの積荷を送達することによって、細胞間コミュニケーションで機能する。

【００７２】

細胞の培養増殖

ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は培養増殖される。「培養増殖」間葉系前駆細胞又は幹細胞培地は、細胞培養培地中で培養され、継代された（すなわち、継代培養された）という点で、新たに単離された細胞と区別される。ある例において、培養増殖間

葉系前駆細胞又は幹細胞は、約４～１０継代にわたって培養増殖される。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも５回、少なくとも６回、少なくとも７回、少なくとも８回、少なくとも９回、少なくとも１０回の継代にわたって培養増殖される。例えば、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも５回の継代にわたって培養増殖することができる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも５～１０回の継代にわたって培養増殖することができる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも５～８回の継代にわたって培養増殖することができる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも５～７回の継代にわたって培養増殖することができる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、１０回を超える継代にわたって培養増殖することができる。別の例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、７回の継代を超えて培養増殖することができる。これらの例において、幹細胞は、凍結保存される前に培養増殖され、中間凍結保存されたＭＬＰＳＣ集団を提供してもよい。ある例において、本開示の組成物は、中間凍結保存されたＭＬＰＳＣ集団から調製される。例えば、中間凍結保存されたＭＬＰＳＣ集団は、以下で更に説明するように、投与前に更に培養増殖することができる。したがって、ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、培養増殖され、凍結保存される。これらの例の実施形態において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、単一のドナー、又は複数のドナーから得ることができ、ドナー試料又は間葉系前駆細胞又は幹細胞は、続いてプールされ、次いで培養増殖される。ある例において、培養増殖プロセスは、

－ｉ．継代増殖によって生細胞の数を増殖して、少なくとも約１０億個の生細胞の調製物を提供することであって、継代増殖は、単離された間葉系前駆細胞又は幹細胞の一次培養物を確立する、提供することと、次いで、前の培養物から単離された間葉系前駆細胞又は幹細胞の第１の非一次（Ｐ１）培養物を連続的に確立することと、

－ｉｉ．単離された間葉系前駆細胞又は幹細胞のＰ１培養物を継代増殖により、間葉系前駆細胞又は幹細胞の第２の非一次（Ｐ２）培養物に増殖させることと、

－ｉｉｉ．間葉系前駆細胞又は幹細胞のＰ２培養物から得られるプロセス内中間体間葉系前駆細胞又は幹細胞調製物を調製し、凍結保存することと、

－ｉｖ．凍結保存されたプロセス内中間体間葉系前駆細胞又は幹細胞調製物を解凍し、プロセス内間葉系前駆細胞又は幹細胞調製物の継代増殖によって増殖させることと、を含む。

【００７３】

ある例において、増殖された間葉系前駆細胞又は幹細胞調製物は、以下を含む抗原プロファイル及び活性プロファイルを有する：

－ｉ．約０．７５％未満のＣＤ４５＋細胞、

－ｉｉ．少なくとも約９５％のＣＤ１０５＋細胞、

－ｉｉｉ．少なくとも約９５％のＣＤ１６６＋細胞。

【００７４】

ある例において、増殖された間葉系前駆細胞又は幹細胞調製物は、対照と比較して、ＣＤ３／ＣＤ２８活性化ＰＢＭＣによるＩＬ２Ｒａ発現を少なくとも約３０％阻害することができる。

【００７５】

ある例において、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞は、約４～１０継代培養増殖され、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、更なる培養増殖の前に少なくとも２又は３の継代後に凍結保存されている。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも１回、少なくとも２回、少なくとも３回、少なくとも４回、少なくとも５回の継代のために培養増殖され、凍結保存され、次いで、投与又は更に凍結保存される前に、少なくとも１回、少なくとも２回、少なくとも３回、少なくとも４回、少なくとも５回の継代のために更に培養増殖される。

【００７６】

ある例において、本開示の組成物中の間葉系前駆細胞又は幹細胞の大部分は、約同一の

世代数である（すなわち、それらは、互いに約１又は約２又は約３又は約４細胞倍化数以内である）。ある例において、本組成物中の細胞倍加の平均数は、約２０～約２５倍化である。ある例において、本組成物中の細胞倍加の平均数は、一次培養物から生じる約９～約１３（例えば、約１１又は約１１．２）倍加、加えて、１継代当たり約１、約２、約３、又は約４倍加（例えば、１継代当たり約２．５倍加）である。本組成物中の例示的な平均細胞倍加は、それぞれ、約１、約２、約３、約４、約５、約６、約７、約８、約９、及び約１０継代によって産生される場合、約１３．５、約１６、約１８．５、約２１、約２３．５、約２６、約２８．５、約３１、約３３．５、及び約３６のうちのいずれかである。

【００７７】

間葉系前駆細胞又は幹細胞単離のプロセス及びエクスビボ増殖は、当該技術分野で既知の任意の装置及び細胞取扱方法を使用して実施することができる。本開示の様々な培養増殖実施形態は、細胞の操作を必要とするステップ、例えば、播種、給餌、接着培養物の解離、又は洗浄のステップを用いる。細胞を操作するステップは、細胞を損傷させる可能性がある。間葉系前駆細胞又は幹細胞は、一般に、調製中に一定量の損傷に耐えることができるが、細胞への傷害を最小限に抑えながら、所与のステップを適切に実行するハンドリング手順及び／又は装置によって細胞を操作することが好ましい。

【００７８】

ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、例えば参照により本明細書に組み込まれる米国特許第６，２５１，２９５号に記載されるように、細胞源バッグ、洗浄液バッグ、再循環洗浄バッグ、入口及び出口ポートを有する回転膜フィルター、濾液バッグ、混合ゾーン、洗浄された細胞のための最終生成物バッグ、及び適切なチューブを含む装置で洗浄される。

【００７９】

ある例において、本開示による間葉系前駆細胞又は幹細胞組成物は、ＣＤ１０５陽性及びＣＤ１６６陽性であることに対して９５％均質であり、ＣＤ４５陰性である。ある例において、この均質性は、エクスビボ増殖、すなわち、複数の集団倍加を通じて持続する。ある例において、組成物は、少なくとも１つの治療用量の間葉系前駆細胞又は幹細胞を含み、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、約１．２５％未満のＣＤ４５＋細胞、少なくとも約９５％のＣＤ１０５＋細胞、及び少なくとも約９５％のＣＤ１６６＋細胞を含む。ある例において、この均質性は低温貯蔵及び解凍後も持続し、細胞は一般に約７０％以上の生存率も有する。

【００８０】

ある例において、本開示の組成物は、相当なレベルのＴＮＦＲ１、例えば、１００万個の間葉系前駆細胞又は幹細胞当たり１３ｐｇを超えるＴＮＦＲ１を発現する間葉系前駆細胞又は幹細胞を含む。ある例において、この表現型は、エクスビボ増殖及び低温保存を通じて安定である。ある例において、１００万個の間葉系前駆細胞又は幹細胞当たり約１３～約１７９ｐｇ（例えば、約１３ｐｇ～約４４ｐｇ）の範囲のＴＮＦＲ１の発現レベルは、エクスビボ増殖及び凍結保存を通じても持続する望ましい治療可能性と関連付けられる。

【００８１】

ある例において、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも１１０ｐｇ／ｍｌの量の腫瘍壊死因子受容体１（ＴＮＦＲ１）を発現する。例えば、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも１５０ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも２００ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも２５０ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも３００ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも３２０ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも３３０ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも３４０ｐｇ／ｍｌ、又は少なくとも３５０ｐｇ／ｍｌの量のＴＮＦＲ１を発現することができる。

【００８２】

ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、少なくとも１３ｐｇ／10^6細胞の量のＴＮＦＲ１を発現する。例えば、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、ＴＮＦＲ１を、少なく

とも１５ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも２０ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも２５ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも３０ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも３５ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも４０ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも４５ｐｇ／１０^{6}細胞、又は少なくとも５０ｐｇ／１０^{6}細胞の量で発現する。

【００８３】

別の例において、本明細書に開示される間葉系前駆細胞又は幹細胞は、Ｔ細胞上のＩＬ－２Ｒα発現を阻害する。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、ＩＬ－２Ｒα発現を少なくとも約３０％、代替的には少なくとも約３５％、代替的には少なくとも約４０％、代替的には少なくとも約４５％、代替的には少なくとも約５０％、代替的には少なくとも約５５％、代替的には少なくとも約６０％阻害することができる。

【００８４】

ある例において、本開示の組成物は、例えば、少なくとも約１億個の細胞又は約１億２５００万個の細胞を含むことができる、少なくとも１つの治療用量の間葉系前駆細胞又は幹細胞を含む。

【００８５】

細胞の修飾

本開示の間葉系前駆細胞又は幹細胞は、投与時に細胞の溶解が阻害されるように変化させてもよい。抗原の改変は、免疫学的非応答性又は寛容性を誘導することができ、それによって、正常な免疫応答における外来細胞の拒絶の最終的な原因である免疫応答のエフェクターフェーズ（例えば、細胞傷害性Ｔ細胞生成、抗体産生等）の誘導を防止する。この目標を達成するために改変され得る抗原としては、例えば、ＭＨＣクラスＩ抗原、ＭＨＣクラスＩＩ抗原、ＬＦＡ－３及びＩＣＡＭ－１が挙げられる。

【００８６】

間葉系前駆細胞又は幹細胞は、縞状骨格筋細胞の分化及び／又は維持のために重要なタンパク質を発現するように遺伝子を修飾してもよい。例示的なタンパク質としては、成長因子（ＴＧＦ－β、インスリン様成長因子１（ＩＧＦ－１）、ＦＧＦ）、筋原性因子（例えば、ｍｙｏＤ、ミオゲニン、ミオゲニン因子５（Ｍｙｆ５）、ミオゲニン調節因子（ＭＲＦ））、転写因子（例えば、ＧＡＴＡ－４）、サイトカイン（例えば、心筋促進因子－１）、ニューレギュリンファミリーのメンバー（例えば、ニューレギュリン１、２及び３）、並びにホメオボックス遺伝子（例えば、Ｃｓｘ、ｔｉｎｍａｎ及びＮＫｘファミリー）が挙げられる。

【００８７】

本開示の組成物

本開示の一例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞及び／又はその後代並びに／又はそれに由来する可溶性因子は、組成物の形態で投与される。一例において、かかる組成物は、薬学的に許容される担体及び／又は賦形剤を含む。したがって、ある例において、本開示の組成物は、培養増殖間葉系前駆細胞又は幹細胞を含むことができる。

【００８８】

「担体」及び「賦形剤」という用語は、活性化合物の貯蔵、投与、及び／又は生物学的活性を促進するために当該技術分野で従来使用される物質の組成物を指す（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１６ｔｈ Ｅｄ．，Ｍａｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ（１９８０）を参照されたい。）担体はまた、活性化合物の任意の望ましくない副作用を低減し得る。好適な担体は、例えば、安定であり、例えば、担体中の他の成分と反応することができない。一例において、担体は、治療に用いる投与量及び濃度においてレシピエントにおいて、有意な局所的又は全身的な有害作用を生じない。

【００８９】

本開示に好適な担体として、従来使用されてきたもの、例えば、水、食塩水、デキストロース水溶液、ラクトース、リンゲル液、緩衝溶液、ヒアルロナン、及びグリコールが、特に（等張性の場合）溶液のための例示的な液体担体である。好適な医薬担体及び賦形剤

としては、デンプン、セルロース、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、塩化ナトリウム、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノール等が挙げられる。

【００９０】

別の例において、担体は、例えば、細胞が成長又は懸濁される培地組成物である。例えば、かかる培地組成物は、それを投与される対象においていかなる副作用も誘発しない。

【００９１】

例示的な担体及び賦形剤は、細胞の生存能及び／又は代謝症候群及び／又は肥満を低減、予防、又は遅延させる細胞の能力に悪影響を及ぼさない。

【００９２】

一例において、担体又は賦形剤は、細胞及び／又は可溶性因子を適切なｐＨで維持するための緩衝活性を提供し、それによって生物学的活性を発揮する。例えば、担体又は賦形剤は、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）である。ＰＢＳは、細胞及び因子と最小限に相互作用し、細胞及び因子の迅速な放出を可能にするため魅力的な担体又は賦形剤を表す。このような場合、本開示の組成物は、例えば、注射によって、血流又は組織内又は組織を取り囲む若しくは組織に隣接する領域に直接適用するための液体として生成され得る。

【００９３】

間葉系前駆細胞若しくは幹細胞及び／又はその後代並びに／又はそれらに由来する可溶性因子はまた、レシピエント適合性であり、レシピエントに有害ではない生成物に分解する骨格内に組み込まれるか、又は埋め込まれ得る。これらの足場は、レシピエント対象内に移植される細胞の支持及び保護を提供する。天然及び／又は合成の生分解性足場は、そのような足場の例である。

【００９４】

様々な異なる足場は、本開示の実施において成功裏に使用され得る。例示的な足場には、生物学的な分解可能な足場が含まれるが、これらに限定されない。天然の生分解性足場には、コラーゲン、フィブロネクチン、及びラミニン足場が含まれる。細胞移植骨格に好適な合成材料は、広範な細胞成長及び細胞機能をサポートすることができるべきである。かかる足場はまた、再吸収可能であってもよい。好適な足場としては、ポリグリコール酸足場が挙げられる（例えば、Ｖａｃａｎｔｉ，ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｐｅｄ．Ｓｕｒｇ．２３：３－９１９８８、Ｃｉｍａ，ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．３８：１４５　１９９１、Ｖａｃａｎｔｉ，ｅｔ　ａｌ．Ｐｌａｓｔ．Ｒｅｃｏｎｓｔｒ．Ｓｕｒｇ．８８：７５３－９　１９９１に記載されているように）、又はポリ酸無水物、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸等の合成ポリマーを含む。

【００９５】

別の例において、間葉系前駆細胞若しくは幹細胞及び／又はその後代並びに／又はそこから誘導される可溶性因子は、ゲル骨格（例えば、Ｕｐｊｏｈｎ　Ｃｏｍｐａｎｙ社のＧｅｌｆｏａｍ）内に投与されてもよい。

【００９６】

本明細書に記載の組成物は、単独で、又は他の細胞との混合物として投与され得る。異なるタイプの細胞は、投与の直前又は少し前に本開示の組成物と混合されてもよいか、又は投与の前の一定の期間一緒に共培養されてもよい。

【００９７】

一例において、組成物は、有効量又は治療的若しくは予防的に有効な量の間葉系前駆細胞若しくは幹細胞及び／又はその後代並びに／又はそれに由来する可溶性因子を含む。例えば、組成物は、約1×10^{5}個の間葉系前駆細胞若しくは幹細胞～約1×10^{9}個の間葉系前駆細胞若しくは幹細胞、又は約1.25×10^{3}個の間葉系前駆細胞若しくは幹細胞～約1.25×10^{7}個の間葉系前駆細胞若しくは幹細胞／ｋｇ（８０ｋｇ対象）を含む。別の例において、組成物は、約1×10^{6}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞～約3×10^{6}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞／ｋｇ（８０ｋｇ対象）を含む。

【００９８】
投与される細胞の正確な量は、対象の年齢、体重、及び性別、並びに治療される障害の程度及び重症度を含む様々な要因に依存する。
【００９９】
ある例において、５０ｘ１０^{6}～２００ｘ１０^{7}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞が投与される。他の例において、６０×１０^{6}～２００×１０^{6}個の細胞又は７５×１０^{6}～１５０×１０^{6}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞が投与される。ある例において、７５ｘ１０^{6}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞が投与される。別の例において、１５０ｘ１０^{6}個の間葉系前駆細胞又は幹細胞が投与される。
【０１００】
ある例において、組成物は、５．００×１０^{6}個／ｍＬ超の生細胞を含む。別の例において、組成物は、５．５０×１０^{6}個／ｍＬ超の生細胞を含む。別の例において、組成物は、６．００×１０^{6}個／ｍＬ超の生細胞を含む。別の例において、組成物は、６．５０×１０^{6}個／ｍＬ超の生細胞を含む。別の例において、組成物は、６．６８×１０^{6}個／ｍＬ超の生細胞を含む。
【０１０１】
ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、組成物の細胞集団の少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約１５％、少なくとも約２０％、少なくとも約２５％、少なくとも約３０％、少なくとも約３５％、少なくとも約４０％、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９９％を構成する。
【０１０２】
本開示の組成物は、凍結保存され得る。間葉系前駆細胞又は幹細胞の凍結保存は、当該技術分野で既知の低速冷却方法又は「高速」凍結プロトコルを使用して行うことができる。好ましくは、凍結保存方法は、非凍結細胞と比較して、凍結保存細胞の類似した表現型、細胞表面マーカー及び成長速度を維持する。
【０１０３】
凍結保存組成物は、凍結保存溶液を含み得る。凍結保存溶液のｐＨは、典型的には６．５～８、好ましくは７．４である。
【０１０４】
凍結保存溶液は、例えば、ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ（商標）等の滅菌非発熱等張溶液を含んでもよい。１００ｍＬのＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ（商標）は、５２６ｍｇの塩化ナトリウム、ＵＳＰ（ＮａＣｌ）、５０２ｍｇのグルコン酸ナトリウム（$C_6H_{11}NaO_7$）、３６８ｍｇの酢酸ナトリウム三水和物、ＵＳＰ（$C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$）、３７ｍｇの塩化カリウム、ＵＳＰ（ＫＣｌ）；及び３０ｍｇの塩化マグネシウム、ＵＳＰ（$MgCl_2 \cdot 6H_2O$）を含有する。ＰｌａｓｍａＬｙｔｅ　Ａ（商標）は、抗菌剤を含まない。ｐＨは、水酸化ナトリウムを用いて調整する。ｐＨは、７．４（６．５～８．０）である。
【０１０５】
凍結保存溶液は、Ｐｒｏｆｒｅｅｚｅ（商標）を含み得る。凍結保存溶液は、追加的又は代替的に、培養培地、例えば、αＭＥＭを含み得る。
【０１０６】
凍結を促進するために、通常、例えば、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）等の凍結保護剤を凍結保存溶液に添加する。理想的には、凍結保護剤は、細胞及び患者にとって無毒であり、非抗原性であり、化学的に不活性であり、解凍後に高い生存率を提供し、洗浄せずに移植を可能にするべきである。しかしながら、最も一般的に使用される凍結保護剤であるＤＭＳＯは、ある程度の細胞傷害性を示す。ヒドロキシルエチルデンプン（ＨＥＳ）を代替物として、又はＤＭＳＯと組み合わせて使用して、凍結保存溶液の細胞毒性を低減してもよい。

【０１０７】
凍結保存溶液は、ＤＭＳＯ、ヒドロキシエチルデンプン、ヒト血清成分、及び他のタンパク質増量剤のうちの１つ以上を含んでよい。一例において、凍結保存溶液は、約５％のヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）及び約１０％のＤＭＳＯを含む。凍結保存溶液は［１］｛２］、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）及びトレハロースのうちの１つ以上を更に含み得る［３］｛４］。
【０１０８】
一実施形態では、細胞を４２．５％のＰｒｏｆｒｅｅｚｅ（商標）／５０％のαＭＥＭ／７．５％のＤＭＳＯに懸濁し、速度制御冷凍庫で冷却する。
【０１０９】
凍結保存組成物は、解凍されて対象に直接投与されてもよく、又は例えば、ＨＡを含む別の溶液に添加されてもよい。あるいは、凍結保存組成物を解凍し、間葉系前駆細胞又は幹細胞を投与前に代替の担体に再懸濁させてもよい。
【０１１０】
ある例において、本開示の細胞組成物は、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、及びヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）を含むことができる。例えば、本開示の組成物は、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ（７０％）、ＤＭＳＯ（１０％）、ＨＳＡ（２５％）溶液を含み得、ＨＳＡ溶液は、５％のＨＳＡ及び１５％の緩衝液を含む。
【０１１１】
ある例において、本明細書に記載の組成物は、単回用量として投与されてもよい。
【０１１２】
いくつかの例において、本明細書に記載の組成物は、複数の用量で投与され得る。例えば、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用量である。
【０１１３】
いくつかの例において、細胞は、細胞が対象の循環に出ることを許容しないが、細胞によって分泌される因子が循環に入ることを許容するチャンバー内に含まれる。このようにして、可溶性因子は、細胞が対象の循環に因子を分泌することを可能にすることによって対象に投与することができる。かかるチャンバーは、可溶性因子の局所レベルを増加させるために、対象の部位に同様に植え込むことができる。
【０１１４】
ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、静脈内投与され得る。別の例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、毎週１回投与される。例えば、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、２週間毎に毎週１回投与することができる。ある例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞は、毎月１回投与することができる。ある例において、２回の用量の間葉系前駆細胞又は幹細胞を毎週１回投与する。別の例において、間葉系前駆細胞又は幹細胞の２回の用量が、２週間毎に毎週１回投与される。例えば、２回の用量の間葉系前駆細胞又は幹細胞は、その後の用量が毎月１回投与される前に、２週間毎に毎週１回投与することができる。この例の実施形態において、用量は、更に１月、２月、３月、４月、５月、６月、７月又はそれ以上にわたって毎月投与される。
【０１１５】
本開示の広範な一般的範囲から逸脱することなく、多数の変形及び／又は修正が上述の実施形態に行われ得ることは、当業者によって理解されるであろう。したがって、本実施形態は、あらゆる点で例示的であり、限定的ではないとみなされるべきである。
【０１１６】
以下の特定の実施例は、単なる例示として解釈されるべきであり、いかなる方法においても本開示の残りの部分を限定するものではない。更に詳述することなく、当業者は、本明細書の記載に基づいて、本発明を最大限に利用することができると考えられる。
【実施例】
【０１１７】

慢性移植片対宿主病（ｃＧｖＨＤ）の治療のための、エクスビボ培養増殖成人同種骨髄由来間葉幹細胞（ＭＳＣ）

組成物

組成物は、健康な成人ドナーの骨髄から単離された培養増殖間葉間質細胞（ｃｅＭＳＣ）からなる。最終組成物は、６．６８×１０６生細胞／ｍＬ以上の濃度で、Ｐｌａｓｍａ－Ｌｙｔｅ　Ａ（７０％）、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ、１０％）、及びヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）（２５％）溶液（２０％、５％ＨＳＡ及び１５％緩衝液を含む）中に製剤化されたｃｅＭＳＣを含む。各用量バイアルは、３．８ｍＬの凍結保存細胞懸濁液を含有する（バイアル当たりの総細胞数≧２５×１０^{6}）。

【０１１８】

目的

主な目的

従来の療法による以前の治療に応答しなかったｃＧｖＨＤを有する対象において、その最初の投与日から６ヶ月にわたって静脈内に投与される上記組成物の反復用量の有効性を評価すること。

【０１１９】

副次的な目標

生存に対する上記組成物の効果を評価すること。

【０１２０】

スコアリングと有効性評価

慢性ＧｖＨＤ臓器スコアリング。

【表２－１】

慢性ＧＶＨＤの臓器スコアリング

臓器	スコア０	スコア１	スコア２	スコア３
皮膚%BSA[1]	BSAは関与していない	1~18%のBSA	19~50%のBSA	50%超のBSA
皮膚特徴	硬化性特徴なし	該当なし	表面的な硬化性の特徴があるが、「隠れバウンド」ではない	深部硬化性特徴;「隠れバウンド」;可動性障害;潰瘍
口	症状なし	軽度の症状で、疾患の兆候があるが、経口摂取を著しく制限しない	経口摂取が部分的に制限された疾患徴候を伴う中等度の症状	経口摂取に大きな制限がある疾患徴候を伴う重篤な症状
眼	症状なし	ADLに影響を及ぼさない軽度のドライアイ症状(潤滑点眼液の滴下量が3回以下/日の要件)	ADLに部分的に影響を及ぼす中等度のドライアイ症状(3回/日超の潤滑点眼液又は涙点プラグを必要とする)で、乾性角結膜炎(KCS)に起因する新しい視力障害がない	ADLに著しい影響を及ぼす重度のドライアイ症状(痛みを緩和するための特別な眼鏡)、又は眼の症状又は乾性角結膜炎(KCS)に起因する視力喪失のために働くことができない
GI管	症状なし	著しい体重減少を伴わない症状(<5%)	3ヶ月以内の軽度から中等度の体重減少(5~15%)又は日常生活に著しい干渉を伴わない中等度の下痢に関連する症状	3ヶ月以内の著しい体重減少(>15%)に関連する症状は、ほとんどのカロリー需要又は食道拡張又は日常生活に著しい干渉を伴う重度の下痢のために栄養補助食品を必要とする。
肝臓	正常な総ビリルビン及びALT又はAP<3xULN	ALT≧3~5xULN又はAP≧3xULNの正常な総ビリルビン	総ビリルビン上昇であるが≦3mg/dL又はALT>5xULN	総ビリルビン上昇3mg/dL超

【表２－２】

肺の症状スコア:	症状なし	軽度の症状(1歩昇った後に息切れ)	中等度の症状(平らな地面を歩いた後に息切れ)	重篤な症状(安静時に息切れ、O2 が必要)
肺の肺スコア:	FEV1≧80%	FEV1 60~79%	FEV1 40~59%	FEV1≦39%
関節及び筋膜	症状なし	腕又は脚の軽度の引き締まり、正常又は軽度の可動域の減少、及び ADL に影響を与えない	腕若しくは脚の圧迫感、又は関節収縮、筋膜炎に起因すると考えられる紅斑、運動範囲の中等度の減少、及び ADL の軽度から中等度の制限	可動域が著しく減少し、ADL が著しく制限されている収縮(靴、ボタンシャツ、ドレスセルフなどを結ぶことができない)
生殖器[2]	兆候なし	軽度の徴候及び女性(検査時の不快感の有無にかかわらず)	中等度の徴候があり、検査時に不快感の兆候がある可能性がある	症状の有無にかかわらず重篤な兆候
その他の特徴[3]	GVHD なし	軽度	中等度	重度

【０１２１】
慢性ＧｖＨＤ応答基準。
【表３】

略語	定義
CR	完全奏効;cGVHD の完全解決。
PR	部分奏効:臓器固有の NIH cGVHD スコアの 1 ポイント以上の減少。
SD	安定した疾患:cGVHD の変化なし
PD	進行性疾患:MSC 治療中又は MSC 治療後 8 週間までに cGVHD が進行する。

【０１２２】
処置の成功は、対象が生きていると定義され、処置開始後６ヶ月でのＣＲ又はＰＲのグレードとして評価された。
【０１２３】
対象

対象は、２×１０^{6}ＭＳＣ／ｋｇ（スクリーニング時の実際の体重）の用量で静脈内（ＩＶ）幹細胞組成物を用いて２週間にわたって毎週１回（±１日）、最初の１ヶ月間治療されることになる。適格であれば、２ｘ１０^{6}ＭＳＣ／ｋｇの継続的な療法は、更に最大５ヶ月間毎月１回提供されることになる。

【０１２４】

評価

ＧｖＨＤ評価は、スクリーニング時に実施し、その後、最初の幹細胞注入の１２ヶ月後まで毎月実施される（２～６ヶ月目は±２日、７～１２ヶ月目は±７日）ことになる。継続的な細胞治療を受けるために対象が続けられるかどうかの決定は、組成物の１回目の用量（０日目）後の４週間（２８日目（±２日目））に実施された対象のｃＧｖＨＤ評価／分類に基づいて、研究者によって決定されることになる。

【０１２５】

１ヶ月目（２８日目（±２日目））の治療評価：

治療評価は、細胞組成物の最初の注入から４週間（２８日目（±２日目））に実施し、治療反応を決定し、対象が継続的な療法を受け続けるかどうかを決定する。２８日目の療法評価は、細胞組成物の最後の用量の少なくとも２４時間後でなければならない。継続的な療法は、以下に記載されるように、処置に対する応答に応じて対象に対して許可されることになる。

【０１２６】

２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、及び１２ヵ月目の療法評価：

治療評価は、治療反応を決定するために、毎月１回（２～６ヶ月目は±２日、７～１２ヶ月目は±７日）実施されることになる。毎月の療法評価は、細胞組成物の最後の用量の少なくとも２４時間後でなければならない。

【０１２７】

継続的な療法

対象は、スクリーニング時の実際の体重で２×１０^{6}ＭＳＣ／ｋｇの同じ初回用量で細胞組成物の追加の１ヶ月の注入を受けてもよく、これは、初回治療後４週間（２８日目（±２日目））に実施された初回治療評価後１週間以内に開始する。継続的な療法の注入は、最大５ヶ月間、毎月１回（±２日間）行われることになる。

【０１２８】

解析

患者＃１　ＡＯ０３０－０２Ｃ：

－患者は４／７細胞組成物の注入を完了した。

ベースライン評価：

－臓器の関与：皮膚、口、眼

－皮膚特徴：斑点状丘疹皮疹／紅斑、丘疹鱗屑性病変／魚鱗癬

－その他の皮膚所見：色素沈着、毛髪の関与

－皮膚％ＢＳＡスコア＝３（５０％ＢＳＡ超）

－眼スコア＝１（ＡＤＬに影響を与えない軽度のドライアイ症状（潤滑点眼液の必要量が３回／日以下）

－口スコア＝１（疾患の兆候があるが、経口摂取を著しく制限しない軽度の症状）

－ｃＧｖＨＤの最大グレード（最良の臨床判断による）＝重度

２８日目の奏効は、部分奏効として評価された：

－臓器の関与：皮膚、眼（口の関与なし）

－皮膚特徴：斑点状丘疹皮疹／紅斑（ベースライン所見）、丘疹鱗屑性病変又は魚鱗癬（２８日目所見）

－その他の皮膚所見：毛髪の関与（改善）、爪の関与（改善）

－皮膚％ＢＳＡスコア＝１（１～１８％ＢＳＡ）

－眼スコア＝１（ＡＤＬに影響を与えない軽度のドライアイ症状（潤滑点眼液の必要量が３回／日以下）

－重症度の主観的な臨床医の意見：軽度
【０１２９】
患者＃２　ＣＬ０５４－００１：
－５／７細胞組成物の注入を完了した。
ベースライン評価：
－臓器の関与：皮膚、口、眼
－皮膚特徴：斑点状丘疹皮疹／紅斑
－その他の皮膚所見：重度／全身性そう痒症、毛髪の関与、爪の関与
－皮膚％ＢＳＡスコア＝１（１～１８％ＢＳＡ）
－眼スコア＝１（ＡＤＬに影響を与えない軽度のドライアイ症状（潤滑点眼液の必要量が３回／日以下）
－口スコア＝１（疾患の兆候があるが、経口摂取を著しく制限しない軽度の症状）
－ｃＧｖＨＤの最大グレード（最良の臨床判断に従う）＝中等度
２８日目の奏効は、部分奏効として評価された：
－臓器の関与：皮膚、眼（口の関与なし）
－皮膚特徴：丘疹鱗屑性病変又は魚鱗癬
－その他の皮膚所見：毛髪の関与（改善）、爪の関与
－皮膚％ＢＳＡスコア＝１（１～１８％ＢＳＡ）
－眼スコア＝１（ＡＤＬに影響を与えない軽度のドライアイ症状（潤滑点眼液の必要量が３回／日以下）
－重症度の主観的な臨床医の意見：軽度
２ヶ月目：部分奏効として評価：
－臓器の関与：皮膚、眼（口の関与なし）
－皮膚特徴：指の上に赤い部分がほとんどない、慢性的な腰の上部と下部が２～３個の小さな丸い斑点で解消されている、耳が軽度の赤みを伴う、頭皮に発疹がなく、髪の毛が太い
－その他の皮膚所見：毛髪の関与、爪の関与
－皮膚％ＢＳＡスコア＝１（１～１８％ＢＳＡ）
－眼スコア＝１（ＡＤＬに影響を与えない軽度のドライアイ症状（潤滑点眼液の必要量が３回以下／日以下）
－重症度の主観的な臨床医の意見：軽度
【０１３０】
患者＃３　ＰＦ０５５－００１：
－２／７細胞組成物の注入を完了した。
ベースライン評価：
－皮膚％ＢＳＡスコア＝２（１９～５０％ＢＳＡ）
－眼スコア＝２（ＡＤＬに部分的に影響を及ぼす中等度のドライアイ症状（３回／日超の潤滑点眼液又は涙点プラグが必要）で、乾性角結膜炎に起因する新たな視力障害はない）
－口スコア＝１（疾患の兆候があるが、経口摂取を著しく制限しない軽度の症状）
－ｃＧｖＨＤの最大グレード（最良の臨床判断に従う）＝中等度
２８日目の奏効は、部分奏効として評価された：
－患者の皮膚（関連する主な臓器）は劇的に改善した。ベースライン時の多数の病変は２に減少した。
【０１３１】
広範に記載されている本開示の趣旨又は範囲から逸脱することなく、特定の実施形態に示されているように、多数の変形及び／又は修正が本開示に行われ得ることは、当業者には理解されよう。したがって、本実施形態は、あらゆる点で例示的であり、限定的ではないとみなされるべきである。
【０１３２】

上述の全ての刊行物は、それらの全体が本明細書に組み込まれる。

【０１３３】

本明細書に含まれる文書、行為、材料、デバイス、物品等の任意の考察は、本開示のための文脈を提供することのみを目的とする。これらの事項のいずれか又は全てが、本出願の各請求項の優先日以前に存在したため、先行技術の基盤の一部を形成する、又は本開示に関連する分野における一般的な知識であったことを認めるものとして理解されるべきではない。

【０１３４】

本出願は、２０２０年２月１９日に出願された豪国仮特許出願第２０２０／９００４７２号からの優先権を主張し、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/054066

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K35/28 A61P37/06 C12N5/0775
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 C12N

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, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, 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	US 2015/307844 A1 (STURM MARIAN JUNE [AU]) 29 October 2015 (2015-10-29) paragraphs [0108], [0159]; examples 1,3 -----	1-26
X	WO 2018/202853 A1 (MESOBLAST INT SARL [CH]) 8 November 2018 (2018-11-08) paragraphs [0223], [0244], [0270] - [0273]; claims 1,16,21 ----- -/--	1-26

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 May 2021	26/05/2021

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bochelen, Damien

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2021/054066

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LUCCHINI G ET AL: "Platelet-lysate-Expanded Mesenchymal Stromal Cells as a Salvage Therapy for Severe Resistant Graft-versus-Host Disease in a Pediatric Population", BIOLOGY OF BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION, KLUGE CARDEN JENNINGS PUBLISHING, CHARLOTTESVILLE, VA, US, vol. 16, no. 9, 1 September 2010 (2010-09-01), pages 1293-1301, XP027197782, ISSN: 1083-8791 [retrieved on 2010-08-06] page 1295 - page 1298; table 2a	1-26
X	ZHOU HONG ET AL: "Efficacy of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Sclerodermatous Chronic Graft-versus-Host Disease: Clinical Report", BIOLOGY OF BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION, vol. 16, no. 3, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 403-412, XP055802500, US ISSN: 1083-8791, DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.006 page 408 - page 409; table 2	1-26
X	WANG LI ET AL: "Efficacy and safety of mesenchymal stromal cells for the prophylaxis of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a meta-analysis of randomized controlled trials", ANNALS OF HEMATOLOGY, BERLIN, DE, vol. 97, no. 10, 8 June 2018 (2018-06-08), pages 1941-1950, XP036567860, ISSN: 0939-5555, DOI: 10.1007/S00277-018-3384-8 [retrieved on 2018-06-08] page 1944 - page 1945; table 2	1-26

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2021/054066

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2015307844 A1	29-10-2015	AU 2014344795 A1	10-03-2016
		BR 112016009753 A2	02-05-2018
		CA 2929333 A1	07-05-2015
		CN 105765059 A	13-07-2016
		EP 3066193 A1	14-09-2016
		IL 245392 A	31-10-2018
		JP 6643999 B2	12-02-2020
		JP 2017501740 A	19-01-2017
		JP 2020022486 A	13-02-2020
		KR 20160070167 A	17-06-2016
		RU 2016119489 A	11-12-2017
		SG 11201603407V A	30-05-2016
		US 2015307844 A1	29-10-2015
		US 2018112181 A1	26-04-2018
		WO 2015061839 A1	07-05-2015
WO 2018202853 A1	08-11-2018	AU 2018262788 A1	14-11-2019
		BR 112019022901 A2	19-05-2020
		CA 3062112 A1	08-11-2018
		CN 110753751 A	04-02-2020
		EP 3619294 A1	11-03-2020
		JP 2020518260 A	25-06-2020
		KR 20200003044 A	08-01-2020
		SG 11201909856X A	28-11-2019
		US 2020325450 A1	15-10-2020
		WO 2018202853 A1	08-11-2018

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		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*37/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06	
Ｃ１２Ｎ	*5/0775(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0775	

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,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

０・メルボルン・コリンズ・ストリート・５５・レベル・３８内

Ｆターム（参考） 4B065 AA90X BA25 BD09 CA44
4C076 CC07 DD23 DD41 DD55 EE41
4C087 AA01 AA02 BB63 MA65 NA14 ZB08