

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成24年9月20日(2012.9.20)

【公表番号】特表2011-529706(P2011-529706A)

【公表日】平成23年12月15日(2011.12.15)

【年通号数】公開・登録公報2011-050

【出願番号】特願2011-522168(P2011-522168)

【国際特許分類】

C 12 N 5/077 (2010.01)

A 61 K 35/12 (2006.01)

A 61 P 25/00 (2006.01)

A 61 P 29/00 (2006.01)

A 61 P 13/12 (2006.01)

【F I】

C 12 N 5/00 202 G

A 61 K 35/12

A 61 P 25/00

A 61 P 29/00

A 61 P 13/12

【手続補正書】

【提出日】平成24年8月2日(2012.8.2)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) 骨髄を提供する工程；

(b) 前記骨髄を、組織培養皿の培養培地で2～10日間培養する工程；

(c) 非接着細胞を除去する工程；

(d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で9～20日間培養する工程；および

(e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出す工程；

によって生成される、間充織間質細胞の集団。

【請求項2】

前記間充織間質細胞の集団が、哺乳動物の間充織間質細胞の集団である、請求項1に記載の集団。

【請求項3】

前記哺乳動物の間充織間質細胞の集団が、ヒトの間充織間質細胞の集団である、請求項2に記載の集団。

【請求項4】

前記血小板溶解産物が、培養培地1ml当たり血小板溶解産物約20μlの割合で前記培養培地に存在する、請求項1に記載の集団。

【請求項5】

前記血小板溶解産物が、プールされた血小板濃縮物または遠心分離後のプールされたバフィーコートからなる、請求項1に記載の集団。

【請求項6】

間充織間質細胞の集団であって、前記間充織間質細胞の集団が、血小板溶解産物添加培養

培地で培養されたものであり、前記間充織間質細胞の集団が、ウシ胎仔血清添加培養培地で培養された間充織間質細胞よりも高い程度で P i c k l e 1 を発現する、集団。

【請求項 7】

血小板溶解産物で培養された前記間充織間質細胞の集団が、ウシ胎仔血清添加培養培地で培養された間充織間質細胞よりも免疫原性が低い、請求項 6 に記載の集団。

【請求項 8】

間充織間質細胞の集団であって、前記集団が、その表面に抗原 C D 1 0 5 、 C D 9 0 、 C D 7 3 、および M H C I を発現する、集団。

【請求項 9】

前記集団が、その表面に C D 4 5 、 C D 3 4 、および C D 1 4 からなる群から選択されるタンパク質を発現しない、請求項 8 に記載の集団。

【請求項 10】

間充織間質細胞の集団の治療有効用量を含む、神経障害、炎症性障害、または腎障害の処置を必要とする被験体の神経障害、炎症性障害、または腎障害を処置するための組成物であって、前記間充織間質細胞の集団は：

- (a) 骨髄を提供する工程；
- (b) 前記骨髄を組織培養皿の培養培地で 2 ~ 1 0 日間培養する工程；
- (c) 非接着細胞を除去する工程；
- (d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 2 0 日間培養する工程；および
- (e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出す工程；を含む方法によって単離される、組成物。

【請求項 11】

前記障害が神経障害である、請求項 1 0 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記神経障害が脳卒中である、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記障害が炎症性障害である、請求項 1 0 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記炎症性障害が多臓器不全である、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記障害が腎障害である、請求項 1 0 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記腎障害が、急性腎不全、慢性腎不全、および慢性腎疾患からなる群から選択される、請求項 1 5 に記載の組成物。

【請求項 17】

間充織間質細胞の集団を単離する方法であって、前記方法は：

- (a) 骨髄を提供する工程；
- (b) 前記骨髄を組織培養皿の培養培地で 2 ~ 1 0 日間培養する工程；
- (c) 非接着細胞を除去する工程；
- (d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 2 0 日間培養する工程；および
- (e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出し、それによって間充織間質細胞の集団を単離する工程を含む、方法。

【請求項 18】

前記間充織間質細胞の集団が、哺乳動物の間充織間質細胞の集団である、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 19】

前記哺乳動物の間充織間質細胞の集団が、ヒトの間充織間質細胞の集団である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 20】

前記血小板溶解産物が、培養培地 1 m l 当たり血小板溶解産物約 2 0 μ l の割合で前記培

養培地に存在する、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記血小板溶解産物が、プールされた血小板濃縮物または遠心分離後のプールされたバフィーコートで構成されている、請求項 1 7 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 5】

本発明はまた、骨髓を提供する工程；骨髓を組織培養皿の培養培地で 2 ~ 1 0 日間培養する工程；非接着細胞を除去する工程；接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 2 0 日間培養する工程；および接着細胞を組織培養皿から取り出す工程；を含む間充織間質細胞の集団を単離する方法も包含する。特定の実施形態では、この間充織間質細胞は、哺乳動物の間充織間質細胞である。一部の実施形態では、哺乳動物の間充織間質細胞は、ヒトの間充織間質細胞である。一部の特定の実施形態では、血小板溶解産物は、培養培地 1 m 1 当たり血小板溶解産物約 2 0 μ l の割合で培養培地に存在する。他の特定の実施形態では、血小板溶解産物は、プールされた血小板濃縮物または遠心分離後のプールされたバフィーコートからなる。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

(a) 骨髓を提供する工程；

(b) 前記骨髓を、組織培養皿の培養培地で 2 ~ 1 0 日間培養する工程；

(c) 非接着細胞を除去する工程；

(d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 2 0 日間培養する工程；および

(e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出す工程；

によって生成される、間充織間質細胞の集団。

(項目 2)

前記間充織間質細胞の集団が、哺乳動物の間充織間質細胞の集団である、項目 1 に記載の集団。

(項目 3)

前記哺乳動物の間充織間質細胞の集団が、ヒトの間充織間質細胞の集団である、項目 2 に記載の集団。

(項目 4)

前記血小板溶解産物が、培養培地 1 m 1 当たり血小板溶解産物約 2 0 μ l の割合で前記培養培地に存在する、項目 1 に記載の集団。

(項目 5)

前記血小板溶解産物が、プールされた血小板濃縮物または遠心分離後のプールされたバフィーコートからなる、項目 1 に記載の集団。

(項目 6)

間充織間質細胞の集団であって、前記間充織間質細胞の集団が、血小板溶解産物添加培養培地で培養されたものであり、前記間充織間質細胞の集団が、ウシ胎仔血清添加培養培地で培養された間充織間質細胞よりも高い程度で P i c k l e 1 を発現する、集団。

(項目 7)

血小板溶解産物で培養された前記間充織間質細胞の集団が、ウシ胎仔血清添加培養培地で培養された間充織間質細胞よりも免疫原性が低い、項目 6 に記載の集団。

(項目 8)

間充織間質細胞の集団であって、前記集団が、その表面に抗原 C D 1 0 5 、 C D 9 0 、 C D 7 3 、および M H C I を発現する、集団。

(項目 9)

前記集団が、その表面に C D 4 5、C D 3 4、および C D 1 4 からなる群から選択されるタンパク質を発現しない、項目 8 に記載の集団。

(項目 10)

間充織間質細胞の集団を治療有効用量投与することによって、必要とする被験体の神経障害、炎症性障害、または腎障害を処置する方法であって、前記間充織間質細胞の集団は：

- (a) 骨髄を提供する工程；
- (b) 前記骨髄を組織培養皿の培養培地で 2 ~ 10 日間培養する工程；
- (c) 非接着細胞を除去する工程；
- (d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 20 日間培養する工程；および
- (e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出す工程；を含む方法によって単離される、方法。

(項目 11)

前記障害が神経障害である、項目 10 に記載の方法。

(項目 12)

前記神経障害が脳卒中である、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記障害が炎症性障害である、項目 10 に記載の方法。

(項目 14)

前記炎症性障害が多臓器不全である、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記障害が腎障害である、項目 10 に記載の方法。

(項目 16)

前記腎障害が、急性腎不全、慢性腎不全、および慢性腎疾患からなる群から選択される、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

間充織間質細胞の集団を単離する方法であって、前記方法は：

- (a) 骨髄を提供する工程；
- (b) 前記骨髄を組織培養皿の培養培地で 2 ~ 10 日間培養する工程；
- (c) 非接着細胞を除去する工程；
- (d) 接着細胞を、血小板溶解産物添加培地で 9 ~ 20 日間培養する工程；および
- (e) 前記接着細胞を前記組織培養皿から取り出し、それによって間充織間質細胞の集団を単離する工程を含む、方法。

(項目 18)

前記間充織間質細胞の集団が、哺乳動物の間充織間質細胞の集団である、項目 17 に記載の方法。

(項目 19)

前記哺乳動物の間充織間質細胞の集団が、ヒトの間充織間質細胞の集団である、項目 18 に記載の方法。

(項目 20)

前記血小板溶解産物が、培養培地 1 ml 当たり血小板溶解産物約 20 μl の割合で前記培養培地に存在する、項目 17 に記載の方法。

(項目 21)

前記血小板溶解産物が、プールされた血小板濃縮物または遠心分離後のプールされたバフィーコートで構成されている、項目 17 に記載の集団。