

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-513388
(P2018-513388A)

(43) 公表日 平成30年5月24日(2018.5.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	4 B 0 6 3
A 6 1 K 35/28 (2015.01)	A 6 1 K 35/28	4 C 0 8 7
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 33 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-555636 (P2017-555636)
 (86) (22) 出願日 平成28年4月25日 (2016. 4. 25)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年12月7日 (2017. 12. 7)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2016/059196
 (87) 国際公開番号 W02016/170187
 (87) 国際公開日 平成28年10月27日 (2016. 10. 27)
 (31) 優先権主張番号 15382206.9
 (32) 優先日 平成27年4月24日 (2015. 4. 24)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 510308964
 ティジェニクス エス. エー. ユー.
 スペイン国 イー-28760 マドリ
 ド, トレス カントス, パルケ テクノロ
 ヒコ デ マドリド, 1, カージェ マ
 ルコーニ
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所
 (72) 発明者 デ ラ ローサ, オルガ
 スペイン国 イー-28760 トレス
 カントス, パルケ テクノロヒコ デ
 マドリド, マルコーニ 1, ティジェニク
 ス エス. エー. ユー.

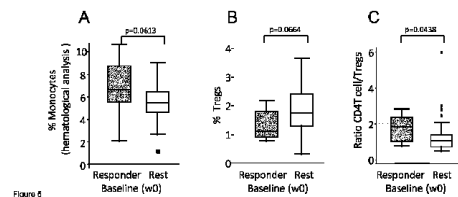
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞療法に対する臨床応答を決定するためのバイオマーカー

(57) 【要約】

本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における間葉系幹細胞(MSC)の投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための方法に関する。本発明はまた、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるオーダーメイド医療の方法ならびにMSCの治療的使用に関する。

【選択図】 図 5



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における間葉系幹細胞(MSC)の投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための方法であって、

患者由来試料中で、

i) 単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、及び

iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、

前記方法。

【請求項 2】

MSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するための方法であって、

患者由来試料中で、

i) 単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、及び

iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、

前記方法。

【請求項 3】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択する方法であって、

患者由来試料中で、

i) 単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、及び

iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大が、MSCの投与

10

20

30

40

50

に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、
前記方法。

【請求項 4】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるMSCの投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するため、及び/又はMSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するため、及び/又は免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択するための、

- i) 単球レベル、
- ii) T_{reg} 細胞レベル、
- iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$)、及び
- iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定するのに好適な試薬を含むキットの使用。

10

【請求項 5】

前記免疫媒介性炎症疾患が関節リウマチである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の方法又は請求項 4 記載の使用。

【請求項 6】

前記関節リウマチが不応性である、請求項 5 記載の方法又は使用。

20

【請求項 7】

MSCが同種異系幹細胞である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の方法又は請求項 4 記載の使用。

【請求項 8】

幹細胞が脂肪組織由来間質幹細胞(ASC)である、請求項 7 記載の方法又は使用。

【請求項 9】

ASCが増殖したASCである、請求項 8 記載の方法又は使用。

【請求項 10】

試料が生物流体又はT細胞を含有する試料である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項記載の方法又は使用。

30

【請求項 11】

それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置における使用のためのMSCであって、

前記患者が、

- 参照値に対する単球レベルの増加、
- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、
- 参照値に対する $CD4^+/T_{reg}$ 比の増大、
- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大

を有する、前記MSC。

【請求項 12】

患者が請求項 2 又は 5 ~ 10 のいずれか 1 項記載の方法を用いて選択された、請求項 11 記載の使用のためのMSC。

40

【請求項 13】

使用が請求項 2 又は 5 ~ 10 のいずれか 1 項記載の方法を用いて患者を選択することを含み、請求項 11 記載の使用のためのMSC。

【請求項 14】

MSCが同種異系幹細胞である、請求項 13 記載の使用のためのMSC。

【請求項 15】

幹細胞が脂肪組織由来間質幹細胞(ASC)である、請求項 11 ~ 14 のいずれか 1 項記載の使用のためのMSC。

50

【請求項 16】

ASCが増殖したASCである、請求項 15 記載の使用のためのMSC。

【請求項 17】

MSC又は幹細胞に基づく療法が全身的又は局所的に投与される、請求項 11 ~ 16 のいずれか 1 項記載の使用のためのMSC。

【請求項 18】

前記免疫媒介性炎症疾患が関節リウマチである、請求項 11 ~ 17 のいずれか 1 項記載の使用のためのMSC。

【請求項 19】

前記関節リウマチが不応性である、請求項 18 記載の使用のためのMSC。

10

【請求項 20】

患者が少なくとも1つの生物学的処置に対して不応性である、請求項 19 記載の使用のためのMSC。

【請求項 21】

前記少なくとも1つの生物学的処置が、TNF- α 、IL-1、IL-6又はT細胞共刺激阻害剤、又は抗CD20抗体である、請求項 20 記載の使用のためのMSC。

【請求項 22】

前記TNF- α 阻害剤がアダリムマブ(Humira)、セルトリズマブ(Cimzia)、エタネルセプト(Enbrel)、ゴリムマブ(Simponi)、リツキシマブ(Rituxan)及びインフリキシマブ(Remicade)から成る群より選択されるか、又は前記IL-1阻害剤がアナキンラであるか、又は前記IL-6阻害剤がトシリズマブであるか、又は前記T細胞共刺激阻害剤がアバタセプト(orencia)であるか、又は前記抗CD20抗体がリツキシマブ(Rituxan)である、請求項 21 記載の使用のためのMSC。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞療法に対する臨床応答を予測するためのバイオマーカーの使用、より具体的には、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における細胞療法に対する臨床応答を予測するためのバイオマーカーの使用の分野に関する。

30

【背景技術】

【0002】

成体間葉系幹細胞(MSC)は、様々な成体組織に見出されている。骨髄で初めて同定されたMSCは、現在では中胚葉起源の他の組織:脂肪組織、胎盤、臍帯、歯髄、滑膜にも存在することが受け入れられている。十分な努力にも拘わらず、MSCの専用の個々の表面マーカーは同定されていない。MSCは、International Society for Cellular Therapyの3つの基準に従って定義される:a)プラスチックへの付着:MSCを、プラスチックへの付着により単離し、増殖因子またはサイトカインをさらに要求しない血清含有媒体中、in vitroで増殖させることができる;b)特定の組合せの表面マーカーの発現:MSCは、CD11b、CD14、CD31、CD34およびCD45などの造血および内皮マーカーについて陰性であり、HLAクラスI、CD73、CD90およびCD105を含む様々な他のマーカーについて陽性である;c)分化能力:MSCを、間葉型細胞に分化するその能力(例えば、脂肪細胞、骨芽細胞および軟骨細胞への3系列分化)によってin vitroで同定することができる。MSCは、初期段階では少なくとも三分化性であり、例えば、in vitroの増殖プロセスの過程において二分化性または単分化性細胞に減少し得る。これらの主な特徴を共有しているが、異なる供給源に由来するMSC間の差異を見出すことができる。従って、セクレトームは細胞型間で異なり、骨髄由来MSC(BM-MSC)と脂肪由来MSC(ASC)は、特異的なRNAおよびタンパク質発現プロファイルを示す。

40

【0003】

MSCは、再生医療における細胞療法、または虚血性、炎症性および免疫疾患などの他の疾患の治療のための有望な道具であると考えられる。in situでの分化はその治療特性の

50

基礎であると最初は考えられていたが、抗線維形成、抗アポトーシスまたは血管新生促進特性を有する栄養因子によるその免疫調節能力およびパラクリン効果はその治療効果のより可能性が高い機構であると現在では考えられている。

【0004】

MSCは、免疫調節特性を示し、Bリンパ球、Tリンパ球、NK細胞、単球樹状細胞および好中球などの様々な免疫細胞の機能(増殖、活性化およびエフェクター機能)を調節する。MSCの免疫調節活性に関与する特定の分子および細胞機構は、依然として調査中であるが、肝細胞増殖因子(HGF)、プロスタグランジン-E2(PGE2)、トランスフォーミング増殖因子(TGF)-ベータ1、インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)、一酸化窒素(NO)、インターロイキン(IL)-10、IL-6、ヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)またはHLA-G5などの可溶性因子の放出による細胞接触依存的機構(すなわち、Jagged1-Notch1相互作用による)とパラクリン効果の両方に依拠する。さらに、MSCはまた、調節性T細胞(T_{reg})の生成により免疫応答を調節することもできる。これらの細胞は、CD4、CD25および転写因子フォークヘッドボックスp3(Foxp3)の発現によって定義され、その免疫抑制能力による自己免疫からの保護において中心的な役割を果たしている。

10

【0005】

この免疫調節能力に加えて、MSCの臨床使用のさらなる潜在的な利点は、MSCの免疫原性が低いと考えられるということである。これは、HLAクラスIの発現が低く、HLAクラスIIおよび古典的共刺激分子CD40、CD80およびCD86が検出可能ではないという事実に起因する。

20

【0006】

MSCに関して初めて報告された臨床試験(1995)の1つは、血液悪性腫瘍を有する患者の処置における骨髄由来間質前駆細胞療法であった。それ以来、いくつかの臨床試験が実行され、初めての上市の承認がMSC療法に対して付与された。現在、骨障害(例えば、骨嚢胞、口蓋裂、骨壊死、脊椎固定術)、軟骨障害(例えば、関節軟骨修復および半月板修復)、血液障害(例えば、貧血、骨髄異形成症候群)、代謝疾患(例えば、I型およびII型糖尿病)、肝疾患(例えば、肝硬変および肝不全)、心血管疾患(例えば、AMI)、胃腸障害(例えば、IBDおよび痔瘻)、自己免疫障害(例えば、関節リウマチおよびクローン病)、肺疾患(例えば、COPDおよびIPF)、神経疾患(例えば、MS、脳卒中および円板変性)、腎疾患(例えば、腎不全および腎移植)、泌尿生殖器障害(例えば、尿失禁および勃起障害)ならびに眼科疾患(例えば、網膜色素変性)などの適応症の処置のための、MSCに関する数百の試験が報告されている。

30

【0007】

そのような進行中の調査は様々な疾患および障害の処置におけるMSCの可能性を例証するが、処置応答の予測のためのバイオマーカーの使用は、そのような療法の開発および使用に役立つ可能性がある。

【発明の概要】

【0008】

本発明者らは、処置前に測定された場合、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における細胞療法に対する応答を予測することができるいくつかのバイオマーカーを同定した。特に、単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力のレベルは、応答者と、非応答者である残りの集団とを識別することができる。

40

【0009】

かくして、第1の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における間葉系幹細胞(MSC)の投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための方法であって、

患者由来試料中で、

i)単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

50

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$)、
iv) T 細胞増殖能力

からなる群より選択されるパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$) の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、前記方法に関する。

10

【0010】

第2の態様において、本発明は、MSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するための方法であって、

患者由来試料中で、

i) 単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$)、

iv) T 細胞増殖能力

からなる群より選択されるパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$) の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、前記方法に関する。

20

【0011】

第3の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択する方法であって、

患者由来試料中で、

i) 単球レベル、

ii) T_{reg} 細胞レベル、

iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$)、

iv) T 細胞増殖能力

からなる群より選択されるパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T 細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$) の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、前記方法に関する。

40

【0012】

別の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるMSCの投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するため、および/またはMSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するため、および/または免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択するための、

50

- i) 単球レベル、
- ii) T_{reg} 細胞レベル、
- iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比 ($CD4^+/T_{reg}$)、
- iv) T細胞増殖能力

からなる群より選択されるパラメータを決定するのに好適な試薬を含むキットの使用に関する。

【0013】

別の態様において、本発明は、患者が、

- 参照値に対する単球レベルの増加、
- 参照値に対するTreg細胞レベルの減少、
- 参照値に対する $CD4^+/T_{reg}$ 比の増大、
- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大

を有する、それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置における使用のためのMSCに関する。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】eASC処置群およびプラセボ群における末梢血中の細胞集団を示す図である。ASCまたはプラセボ投与後、ベースライン(第0週)、第4週および第12週での陽性細胞のパーセンテージを示す。T細胞($CD3/CD4/CD8$)、NK細胞($CD56^+$)、B細胞($CD20^+$)、単球($CD14^+$)および T_{reg} 細胞($CD4^+CD25^+FoxP3^+$)を分析した。全データを、異なる免疫学的パラメータの四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示する。点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図2】eASC処置群およびプラセボ群における末梢血中のサイトカインの血漿レベルを示す図である。サイトカイン:IL-2、IL4、IL-6、IL-8、sCD-40L、TNF- α 、IL-23p19およびTGf- β の濃度(pg/ml)の決定のための増殖脂肪由来幹細胞(eASC)またはプラセボ投与後、ベースラインおよび第4週で、患者由来血漿を選択した。全データを、異なる免疫学的パラメータの四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示する。点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図3】応答者と、残りの集団との患者階層化を示す図である。A)「応答者」と「残りの集団」におけるRAMRIS総合スコア。ベースライン(第0週)および試験の終わり(第24週)での患者の値を、この図面において用いた。箱ひげ図は、四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)を示す;単一の点は外れ値を表す。「応答者」群についてのRAMRISスコアの制御または減少および「残りの集団」群についてのRAMRIS総合スコアの増加に基づいて、サブグループを階層化した。有意性を、サンプル対についてMann-Whitney検定およびStudent T検定により分析した。B)「応答者」および「残りの集団」におけるEULAR応答(DAS28-CRP)。eASC投与後、ベースライン(第0週)および第4、5および6週での患者の値を、この図面において用いた。試験の終わりでのRAMRISスコアに基づいて、サブグループを階層化した。箱ひげ図は、四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)を示す;単一の点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図4】応答患者および残りの集団における細胞分布を示す図である。ASCまたはプラセボ投与後、ベースライン(第0週)、第4週および第12週での陽性細胞のパーセンテージを示す。T細胞($CD3/CD4/CD8$)、NK細胞($CD56^+$)、B細胞($CD20^+$)、単球($CD14^+$)および T_{reg} 細胞($CD4^+CD25^+FoxP3^+$)を、応答者および残りの集団において分析した。データを、異なる免疫学的パラメータの四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示する。点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図5】応答患者および残りの集団における細胞分布を示す図である。「応答者」および「残りの集団」における(A)単球、(B) T_{reg} および(C) $CD4^+$ T細胞/ T_{reg} 比のベースラインレベル(第0週)。データを、異なる免疫学的パラメータの四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p5

10

20

30

40

50

0中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示する。点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図6】応答患者および残りの集団におけるTGF- β レベルを示す図である。ベースライン(第0週)および第4週で応答患者および残りの集団においてTGF- β 濃度をpg/mlで分析した。結果を、応答者(n=11)および残りの集団(n=35)においてグループ化する。データを、異なる免疫学的パラメータの四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示する。点は外れ値を表す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【図7】RA患者におけるT細胞増殖能力およびeASC阻害能力を示す図である。A)ベースライン(第0週)および第4週で患者由来PBMC中で増殖試験を行った。PBMCを、抗CD3/CD2/CD28でコーティングしたビーズで活性化し、120時間インキュベートした。分裂指数は、健康なPBMC、非処置RA患者および同種異系ASCの1回目の投与の4週間後のRA患者に由来する活性化T細胞の増殖能力を表している。B)eASCの存在下および非存在下、ベースライン(第0週)で患者由来PBMC中で増殖試験を行った。結果は、PBMCのみについて算出された最大増殖に対して正規化されたeASCの非存在下および存在下での活性化の際のT細胞増殖のパーセンテージを示す。棒グラフは、RA患者におけるベースラインでの増殖のパーセンテージの平均および標準偏差を表す。C)eASC投与後、ベースライン(第0週)および第4週で、患者由来PBMC中で増殖試験を行った。PBMCを、抗CD3/CD2/CD28でコーティングされたビーズで活性化し、120時間インキュベートした。T細胞分裂指数は、「応答者」および「残りの集団」における活性化T細胞の増殖能力を表している。箱ひげ図は、四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)を示す。有意性を、Mann-Whitney検定により分析した。

【発明を実施するための形態】

【0015】

定義

本明細書の理解を容易にするために、本発明の文脈におけるいくつかの用語および表現の意味を以下で説明する。さらなる定義は、必要に応じて本明細書を通して含まれる。

【0016】

用語「間葉系幹細胞」、「免疫細胞」および「線維芽細胞」は、限定されるものではないが、そのex vivoで培養された子孫を含む、その子孫を包含すると取られるべきである。子孫細胞を、親集団からの任意の回数の継代後に取得することができることが理解される。しかしながら、ある特定の実施形態においては、子孫細胞を、親集団からの約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、または約10回の継代後に取得することができる。

【0017】

本明細書で用いられる用語「間葉系幹細胞」または「MSC」または「間葉間質幹細胞」は、多能性幹細胞である、すなわち、それらは複数の異なる型の細胞を生じることができる細胞である。この用語は、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、または筋細胞のうち少なくとも1種に分化することができる細胞を指す。MSCを、任意の型の組織から単離することができる。一般的には、MSCは、骨髄、脂肪組織、臍帯、または末梢血から単離される。いくつかの実施形態においては、本発明において用いられるMSCを、骨髄(BM-MSC)または脂肪組織(ASC)から単離することができる。本発明の好ましい態様においては、MSCは、脂肪吸引物、脂肪組織から取得されたそのものから得られる。本明細書で用いられるこの用語は、前記MSCの子孫、例えば、限定されるものではないが、その二次培養された子孫を含むと取られるべきである。

【0018】

本発明において用いられるMSCは、好ましくは、(i)それらが抗原提示細胞に特異的なマーカーを発現しないこと、(ii)それらがIDO(インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ)を構成的に発現しないこと、(iii)それらがIFN- γ による刺激時にIDOを発現すること、および(iv)それらが少なくとも2つの細胞系列に分化する能力を示すことを特徴とする。あるいは、本発明において用いられるMSCは、好ましくは、マーカーのセットの存在およ

び非存在を特徴とする、すなわち、前記細胞は、(i)それらがCD9、CD10、CD13、CD29、CD44、CD49a、CD51、CD54、CD55、CD58、CD59、CD90またはCD105を発現すること、および(ii)それらがCD11b、CD14、CD15、CD16、CD31、CD34、CD45、CD49f、CD102、CD104、CD106またはCD133を発現しないことを特徴とする。

【0019】

「脂肪組織」とは、任意の脂肪組織を意味する。脂肪組織は、例えば、皮下、大網/内臓、乳房、生殖腺、臓器周囲または他の脂肪組織部位に由来する、褐色または白色脂肪組織であってもよい。好ましくは、脂肪組織は、皮下白色脂肪組織である。脂肪組織は、一次細胞培養物または不死化細胞株を含んでもよい。脂肪組織は、脂肪組織を有する任意の生物に由来するものであってもよい。いくつかの実施形態においては、脂肪組織は、哺乳動物のものであり、さらなる実施形態においては、脂肪組織はヒトのものである。脂肪組織の好都合の供給源は、脂肪吸引術である。しかしながら、脂肪組織の供給源も、脂肪組織の単離方法も、本発明にとって重要ではないことが理解される。本明細書に記載の細胞が被験体への自己移植のために望まれる場合、脂肪組織はその被験体から単離される。

【0020】

本明細書で用いられる「脂肪組織由来間質幹細胞」または「ASC」または「ADSC」とは、脂肪組織、一般的には、ヒト脂肪組織(hASC)を起源とするMSCを指す。

【0021】

本明細書で用いられる用語「間質細胞」とは、任意の臓器の結合組織細胞を指す。線維芽細胞および周皮細胞は、中でも最も一般的な型の間質細胞である。

【0022】

本明細書で用いられる用語「免疫細胞」とは、骨に由来し、末梢組織を保護するように成熟および移住し、血管およびリンパ管中で循環する免疫系の細胞を指す。免疫細胞は多能性造血幹細胞を起源とし、適応免疫を担うリンパ系を生じ、また、自然免疫と適応免疫の両方に関与する骨髄系も生じる。リンパ系は、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)、T細胞およびB細胞に分化する細胞を含み、骨髄系は、単球およびマクロファージ、樹状細胞、好中球、好塩基球、および好酸球に分化する細胞を含む。

【0023】

本明細書で用いられる用語「ナチュラルキラー細胞」または「NK細胞」とは、ウイルス感染細胞に対する迅速な応答を提供し、腫瘍形成に応答する細胞傷害性リンパ球の型を指す。NK細胞は、CD16およびCD56を発現することを特徴とする。

【0024】

本明細書で用いられる用語「Tリンパ球」または「T細胞」とは、細胞表面上にT細胞受容体(TCR)を発現することを特徴とするリンパ球の型を指し、細胞性免疫において中心的な役割を果たす。ヘルパーT細胞(CD4+)、細胞傷害性T細胞(CD8+)、記憶T細胞(CD45RO)、調節性T細胞(T_{reg})(CD4+CD25brightFoxp3+または誘導性CD4+CD25bright細胞)、およびナチュラルキラーT細胞(NKT細胞)を含むいくつかの型のT細胞が存在する。T細胞の活性化の際に、それらはいわゆる「初期および/または中間活性化マーカー」を発現し始める。「初期および/または中間T細胞活性化マーカー」は、CD69、HLA-DR、CD25、CD71、CD154、CD38、およびCD27を含む。

【0025】

本明細書で用いられる用語「Bリンパ球」または「B細胞」とは、適応免疫系の体液性免疫において役割を果たし、細胞表面上のB細胞受容体(BCR)の存在を特徴とするリンパ球を指す。B細胞型としては、形質細胞、記憶B細胞、B-1細胞、B-2細胞、辺縁帯B細胞、濾胞性B細胞、および調節性B細胞(B_{reg})が挙げられる。

【0026】

本明細書で用いられる用語「単球」とは、血液中で約1~3日間循環した後、血流から他の組織に移住し、次いで、そこで組織定住性マクロファージまたは樹状細胞に分化する免疫細胞を指す。

【0027】

10

20

30

40

50

本明細書で用いられる用語「マクロファージ」とは、単球の分化により産生される細胞を指す。マクロファージは、CD14、CD40、CD11b、CD64、EMR1、リゾチームM、MAC-1/MAC-3およびCD68の発現を特徴とする。

【0028】

本明細書で用いられる用語「樹状細胞」とは、外部環境と接触している組織中に存在する抗原提示細胞を指す。樹状細胞は、未熟な食細胞として組織に進入し、そこで抗原の取込みに特殊化する。

【0029】

好中球、好酸球、および好塩基球は、顆粒球として集合的に知られる；それらは感染および炎症の部位でエフェクター細胞として作用するよう動員されない限り、血液中に循環する。マスト細胞はエキソサイトーシス性であり、寄生虫ならびに誘発アレルギー炎症に対する防御を指揮すると考えられる；それらは好酸球および好塩基球を動員し、これもエキソサイトーシス性である。

10

【0030】

本明細書で用いられる用語「好中球」とは、CD68およびCD15発現を特徴とする顆粒球の型を指す。

【0031】

本明細書で用いられる用語「好塩基球」とは、以下のマーカーパターン：Fc RI+、CD123、CD49b(DX-5)+、CD69+、Thy-1.2+、2B4+、CD11bdull、CD117(c-kit)-、CD24-、CD19-、CD80-、CD14-、CD23-、Ly49c-、CD122-、CD11c-、Gr-1-、NK1.1-、B220-、CD3-、TCR-、4および4-インテグリン陰性を特徴とする顆粒球の型を指す。好塩基球は、多くの特定の種類の炎症反応、特に、アレルギー症状を引き起こすものに見られる。

20

【0032】

本明細書で用いられる用語「好酸球」とは、Siglec-F発現を特徴とする顆粒球の型を指す。

【0033】

本明細書で用いられる用語「線維芽細胞」とは、細胞外マトリックスの合成および維持と関連し、滑膜細胞のような線維芽細胞を含むと取られるべきである間葉由来結合組織細胞を指す。

30

【0034】

本明細書で用いられる用語「同種異系」とは、同じ種の異なる個体に由来することを意味すると取られるべきである。1つ以上の遺伝子座の遺伝子が同一でない場合、2以上の個体は互いに同種異系であると言われる。

【0035】

本明細書で用いられる用語「自己」とは、同じ個体に由来することを意味すると取られるべきである。

【0036】

本明細書で用いられる用語「増殖した細胞」とは、ex vivoで培養される細胞を指す。

【0037】

本明細書で用いられる用語「患者」とは、哺乳動物として分類される全ての動物を指し、限定されるものではないが、障害または疾患に罹患している家畜および農業動物、霊長類およびヒト、例えば、人類、非ヒト霊長類、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、またはげっ歯類が挙げられる。好ましくは、患者は、任意の年齢または人種の男性または女性のヒトである。

40

【0038】

本明細書で用いられる用語「免疫媒介性炎症疾患」または「IMID」とは、明確な病因を欠くが、炎症をもたらす共通の炎症経路と特徴とし、正常な免疫応答の調節異常をもたらす、またはそれにより誘発され得る状態または疾患の任意の群を指す。炎症は、本発明の文脈内で、多くの医学的障害および自己免疫障害を媒介し、その主な原動力であるため、

50

免疫媒介性炎症疾患という用語は、自己免疫障害および炎症疾患を包含することも意味する。

【0039】

用語「自己免疫障害」とは、細胞、組織および/または臓器損傷を特徴とし、被験体自身の細胞、組織および/または臓器に対する被験体の免疫反応により引き起こされる、被験体における状態を指す。本発明の方法または医薬組成物を用いて処置することができる自己免疫疾患の例示的な非限定例としては、円形脱毛症、関節リウマチ(RA)、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、副腎の自己免疫疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎および精巣炎、自己免疫性血小板減少症、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアック病-皮膚炎、慢性疲労免疫機能障害症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発性神経障害、チャージ・ストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素症、円板状ループス、本態性混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛-線維筋炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギランバレー症候群、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA腎症、若年性関節炎、扁平苔癬、メニエール病、混合型結合組織疾患、多発性硬化症、1型または免疫媒介性糖尿病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、サルコイドーシス、強皮症、全身性進行性硬化症、シェーグレン症候群、グッドパスチャー症候群、スティフマン症候群、全身性エリテマトーデス、紅斑性狼瘡、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、疱疹状皮膚血管炎などの血管炎、白斑、ウェゲナー肉芽腫症、抗糸球体基底膜疾患、抗リン脂質症候群、神経系の自己免疫疾患、家族性地中海熱、ランバート・イトン筋無力症候群、交感性眼炎、多腺性内分泌障害、乾癬などが挙げられる。

10

20

【0040】

用語「炎症疾患」とは、炎症、例えば、慢性炎症を特徴とする被験体における状態を指す。炎症障害の例示的な非限定例としては、限定されるものではないが、セリアック病、関節リウマチ(RA)、炎症性腸疾患(IBD)、喘息、脳炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、炎症性骨溶解、クローン病、潰瘍性大腸炎、アレルギー障害、敗血性ショック、肺線維症(例えば、特発性肺線維症)、炎症性血管炎(例えば、結節性多発動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、高安動脈炎、側頭動脈炎、およびリンパ腫様肉芽腫症)、外傷後血管形成術(例えば、血管形成術後の再狭窄)、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、炎症性骨溶解、慢性肝炎、慢性ウイルスまたは細菌感染から生じる慢性炎症、および敗血症などの急性炎症が挙げられる。

30

【0041】

本明細書で用いられる用語「不応性」とは、確立された治療処置に応答しない、またはそれに対して耐性になる障害または疾患を指す。

【0042】

本明細書で用いられる用語「処置(治療)する」または「処置(治療)」または「処置(治療)すること」は、患者または被験体を参照して直接用いられる場合、疾患または障害と関連する1以上の症状の改善のための前記処置を必要とする患者被験体への療法の投与(実施)を意味すると取られるべきである。処置を必要とする者としては、状態もしくは障害を既に有する者ならびに状態もしくは障害を有する傾向がある者または状態もしくは障害を防止しようとする者が挙げられる。損傷した組織を参照して直接用いられる場合、用語「処置する」または「処置」または「処置すること」は、損傷した組織の再生、損傷した組織の修復または置換(例えば、癩痕組織による)などの直接的な機構ならびに例えば、炎症の軽減によって組織形成を可能にすることなどの間接的な機構の両方による、そのような損傷の改善を意味すると取られるべきである。

40

【0043】

本明細書で用いられる用語「臨床応答性」または「臨床応答」または「処置応答」は、

50

疾患または障害と関連する1つ以上の臨床兆候の変化であって、前記処置または療法を必要とする対象への医薬組成物の投与の結果生じる前記変化を意味すると取られるべきである。

【0044】

本明細書で用いられる用語「臨床応答を予測すること」とは、患者が陽性であっても、または陰性であっても、特定の臨床転帰を有する可能性を指す。本発明の予測方法を臨床的に用いて、任意の特定の患者について最も適切な処置モダリティを選択することによって処置決定を行うことができる。本発明の予測方法は、患者が細胞療法などの処置レジメンに対して好ましく応答する可能性がある場合の予測において有用な手段である。予測はまた、予後因子を含んでもよい。当業者であれば理解できるように、予測は、評価しようとする患者の100%について正確であることが好ましいが、必要であるわけではない。しかしながら、この用語は、被験体の統計的に有意な部分を、所与の臨床応答を有する確率が高いものと同定することができることを要する。

10

【0045】

本明細書で用いられる用語「決定すること」は、患者の臨床応答の予測において有用であり得る任意のパラメータの決定に関する。当業者であれば理解できるように、パラメータの決定は、診断または評価しようとする被験体の100%について正確であることが好ましいが、必要であるわけではない。しかしながら、この用語は、被験体の統計的に有意な部分を、所与のパラメータを提示すると同定することができることを要する。

【0046】

被験体が統計的に有意であるかどうかを、様々な周知の統計評価手段、例えば、信頼区間の決定、p値の決定、Studentのt検定、Mann-Whitney検定などを用いて当業者によるさらなる骨折りなしに決定することができる。詳細は、Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983に見出される。好ましい信頼区間は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%である。p値は、好ましくは、0.05、0.01、0.005以下である。

20

【0047】

用語「応答者」は、処置が免疫媒介性炎症疾患の1つ以上の症状の悪化を改善もしくは改良もしくは防止するか、またはそうでなければ前記変化が前記処置の結果生じる治療利益を提供する、前記疾患を有する患者を意味すると取られるべきである。対照的に、用語「非応答者」または「残りの集団」と分類される患者は、処置が免疫媒介性炎症疾患の1つ以上の症状を改善もしくは改良しないか、または患者に対して治療利益を提供しない、前記疾患を有する患者を意味すると取られるべきである。

30

【0048】

本明細書で用いられる用語「培養」とは、培地中での細胞、生物、多細胞実体、または組織の増殖を指す。用語「培養すること」とは、そのような増殖を達成する任意の方法を指し、複数のステップを含んでもよい。

【0049】

用語「培養培地」または「培地」は、当業界で認識され、一般に、生きている細胞の培養に用いられる任意の物質または調製物を指す。細胞培養を参照して用いられる用語「培地」は、細胞を取り囲む環境の成分を含む。培地は、固体、液体、気体または相と材料の混合物であってもよい。培地はまた、寒天、アガロース、ゼラチンおよびコラーゲンマトリックスなどのゼラチン状媒体も含む。例示的な気体培地としては、ペトリ皿または他の固体もしくは半固体支持体上で増殖する細胞が曝露される気相が挙げられる。

40

【0050】

用語「含む(comprise)」および「含む(comprising)」は、さらなる要素が含まれていてもよい包括的な、開いた感覚の意味で用いられる。

【0051】

本明細書で用いられる用語「含む(including)」は、「限定されるものではないが、含む(including but not limited to)」または「限定されないが含む(including without l

50

imitation)」を意味する。これらの用語は、互換的に用いられる。

【0052】

1. 予測方法

本発明者らは、処置前の免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるいくつかのバイオマーカーのレベルを用いて、細胞療法に応答する患者、すなわち、応答者と、応答しない患者、すなわち、非応答者とを予測的に区別することができることを示した。

【0053】

かくして、第1の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における間葉系幹細胞(MSC)の投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための方法、以後、「本発明の予測方法」であって、前記患者から得られた血液試料中の単球レベルおよび/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定することを含み、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/またはT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す、前記方法に関する。

【0054】

本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球レベルおよび/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定するステップを含む。

【0055】

単球、 T_{reg} 細胞および $CD4^+$ T細胞集団の測定のための方法は、当業界で周知である。前記細胞の定量のための至適基準方法は、フローサイトメトリーである。前記細胞集団の蛍光タグ検出のための染色パネルが市販されている。典型的には、それぞれのサブ集団の%は、それぞれの細胞集団の特異的マーカーについて染色することによって決定される。%の細胞計数への変換を、固定容量の試料を分析するか、または任意の所与の試料の容量を記録することによる容積測定手法を用いることにより実行することができる。場合により、 $CD4$ などの特定の細胞表面マーカーを、従来の方法および装置(例えば、市販の抗体および当業界で公知の標準的なプロトコールと共に用いられるBecton Dickinson FACSCaliburシステム)を用いて検出することができる。あるいは、ビーズに基づくシステムにより、試料を急増させ、かくして、試料容積を測定するための蛍光ビーズを用いることにより、%の絶対細胞数への変換が可能になる。容積測定またはビーズに基づく手法は、単一プラットフォーム手法と言われ、市販されており、例えば、TruCount(Becton Dickinson)およびFlowCoud(Beckman Coulter)がある。さらに、 $CD4^+$ 分析のための専用プラットフォームも入手可能であり、例えば、FACScount(Becton Dickinson)がある。細胞定量のための代替的な方法は、FACS測定のための参照としての総リンパ球数の測定のための血液分析装置の使用である。プラットフォーム手法の組合せを用いるリンパ球サブ集団の定量のための、「デュアルプラットフォーム」手法とよく呼ばれる、「全白血球ゲート(pan-leucogating)」などの手法が当業界で公知である。フローサイトメトリーに対する代替として、血球計と組み合わせた顕微鏡を用いる手動方法が公知である。市販のキットは、細胞サブ集団の単離のために免疫磁気ビーズを使用し、続いて、顕微鏡下で計数することができる。ELISAなどの、血液試料中の細胞レベルを決定するための任意の他の標準的な技術を用いることもできる。

【0056】

細胞レベルを決定する前に、血液試料をプロセッシングして、任意の従来技術を用いて、存在する細胞を精製、単離または濃縮することができる。

【0057】

特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、単球レベルを決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、 T_{reg} 細胞レベルを決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)を決定するステップを含む

。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中のT細胞増殖能力を決定するステップを含む。

【0058】

別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球および T_{reg} 細胞のレベルを決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球レベルおよび T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の T_{reg} 細胞レベルおよび T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球レベルおよびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の T_{reg} 細胞レベルおよびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)およびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。

10

【0059】

別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球、 T_{reg} 細胞のレベルおよび T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球、 T_{reg} 細胞のレベルおよびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球レベル、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)およびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の T_{reg} 細胞レベルおよび T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)およびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。

20

【0060】

別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、前記患者から得られた血液試料中の単球、 T_{reg} 細胞のレベルおよび T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)およびT細胞増殖能力を決定するステップを含む。

【0061】

本発明の予測方法によれば、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞の減少、および/または参照値に対する $CD4^+/T_{reg}$ 比の増大、および/またはT細胞増殖能力の増大は、MSC、免疫細胞、線維芽細胞またはその組合せの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示す。

30

【0062】

本明細書で用いられる用語「T細胞増殖」とは、抗原の存在下または非存在下で、抗原提示細胞と共にT細胞をインキュベートする間に産生されるT細胞の数を指す。個体におけるT細胞のT細胞増殖能力を、標識されたヌクレオチドをそのDNA中に取り込むT細胞集団の能力(例えば、トリチウム化チミジンまたは5-プロモ-2'-デオキシウリジン)を測定することにより、活性化マーカーCD38の出現を測定することにより(例えば、FACSによる)、5,6-カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル(CFSE)で標識されたT細胞の蛍光強度の低下を測定することによるなど、当業界で周知の方法を用いて決定することができる。

40

【0063】

本明細書で用いられる用語「参照値」は、被験体から収集された試料から得られた値またはデータを評価するための参照として用いられる所定の基準に関する。参照値または参照レベルは、絶対値、相対値、上限または下限を有する値、値の範囲、平均(average)値、中央値、平均(mean)値、または特定の対照もしくはベースライン値と比較した値であってもよい。本発明の予測方法による参照値は、MSCの投与に基づく療法に応答しない1人以上の患者、すなわち、1人以上の非応答患者または「非応答者」から得られた血液試料中

50

の単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または $CD4^+/T_{reg}$ 比、および/またはT細胞活性化能力の値から得られる。

【0064】

本発明の文脈においては、ある特定の細胞型のレベルは、試料中の前記細胞型のレベルが参照値よりも高い場合、「増加した」と考えられる。細胞型のレベルは、それがその参照値よりも少なくとも1.5%、少なくとも2%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも150%以上高い場合、その参照値より高いと考えられる。

10

【0065】

同様に、ある特定の細胞型のレベルは、試料中の前記細胞型のレベルが参照値よりも低い場合、「減少した」と考えられる。細胞型のレベルは、それがその参照値よりも少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも150%以上低い場合、その参照値より低いと考えられる。

20

【0066】

特定の実施形態においては、療法が基づくMSCは同種異系である。別の特定の実施形態においては、療法が基づくMSCは自己である。

【0067】

別の特定の実施形態においては、療法は、MSCの投与に基づく。好ましい実施形態においては、MSCは、脂肪組織由来幹細胞または脂肪組織由来間質細胞(ASC)である。

【0068】

別の特定の実施形態においては、MSCは、増殖したMSC、免疫細胞、線維芽細胞またはその組合せである。本明細書で用いられる用語「増殖した細胞」とは、維持され、単離の際にex vivoで増殖させる細胞を指す。MSC集団のex vivoでの増殖のための方法は、当業界で公知である。MSCを例として取れば、単離後、MSCを、細胞培養培地中で維持し、ex vivoで増殖させることができる。そのような培地は、例えば、抗生物質(例えば、100ユニット/mlのペニシリンおよび100 µg/mlのストレプトマイシン)を含む、または抗生物質を含まない、および2mMグルタミンを含み、2%~20%のウシ胎仔血清(FBS)を添加したDulbeccoの改変イーグル培地(DMEM)から構成されていてもよい。用いられる細胞にとっての必要に応じて、培地および/または培地添加物の濃度を改変または調節することは当業者の技術の範囲内にある。血清は、細胞性および非細胞性因子ならびに生存および増殖にとって必要である成分を含有することが多い。血清の例としては、ウシ胎仔血清(FBS)、ウシ血清(BS)、仔ウシ血清(CS)、ウシ胎仔血清(FCS)、ウシ新生児血清(NCS)、ヤギ血清(GS)、ウマ血清(HS)、ブタ血清、ヒツジ血清、ウサギ血清、ラット血清(RS)などが挙げられる。また、前記MSCがヒト起源のものである場合、細胞培養培地に、好ましくは、自己起源のヒト血清を添加することも本発明の範囲内にある。補体カスケードの成分を不活化することが必要と見なされる場合、血清を55~65 °Cで熱不活化してもよいことが理解される。血清濃度の調節および/または培養培地からの血清の除去を用いて、1種以上の望ましい細胞型の生存を促進することもできる。好ましくは、前記MSCは、約2%~約25%のFBS濃度から利益を得る。別の実施形態においては、血清が、血清アルブミン、血清トランスフェリン、セレン、ならびに限定されるものではないが、当業界で公知のインスリン、血小板由来増殖因子(PDGF)、および塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)などの組換えタンパク質の組合せで置き換えられた明確な組成の細胞培養培地中でMSCを増殖させることができる。

30

40

【0069】

50

好ましい実施形態においては、細胞を、少なくとも約15日、少なくとも約20日、少なくとも約25日、または少なくとも約30日にわたって培養することができる。培養物中での細胞の増殖は、細胞集団中の細胞表現型の均一性を改善することができ、従って、好ましい実施形態においては、実質的に均一になるまで前記細胞を培養する。より好ましくは、細胞を、少なくとも3回の培養継代にわたって培養物中で増殖させるか、または「少なくとも3回継代する」。他の好ましい実施形態においては、細胞を、少なくとも4回、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、または少なくとも10回継代する。細胞の多系統分化能力は、増殖中に、例えば、細胞の連続継代と共に低下することが理解される；それにも拘わらず、そのような子孫細胞は本発明の実施形態の範囲内にある。細胞増殖のための方法は、当業界で公知であり、市販の2Dまたは3Dバイオリアクターの使用を含んでもよい。

10

【0070】

別の特定の実施形態においては、MSCは、全身的に、好ましくは、直腸、経鼻、頬、経膈、皮下、皮内、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、髄内、病変内、もしくは頭蓋内経路により、または埋込み型リザーバーにより投与される。別の特定の実施形態においては、MSCは、局所的に投与される。

【0071】

別の特定の実施形態においては、免疫媒介性炎症疾患は、自己免疫障害である。

【0072】

別の特定の実施形態においては、免疫媒介性炎症疾患は、セリアック病、関節リウマチ(RA)、炎症性腸疾患(IBD)、喘息、脳炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、炎症性骨溶解、クローン病、潰瘍性大腸炎、アレルギー障害、敗血性ショック、肺線維症(例えば、特発性肺線維症)、炎症性血管炎(例えば、結節性多発動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、高安動脈炎、側頭動脈炎、およびリンパ腫様肉芽腫症)、外傷後血管形成術(例えば、血管形成術後の再狭窄)、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、炎症性骨溶解、慢性肝炎、慢性ウイルスまたは細菌感染から生じる慢性炎症からなる群より選択される炎症疾患、好ましくは、RAである。

20

【0073】

より好ましい実施形態においては、RAは不応性である。

【0074】

別の好ましい実施形態においては、患者は、少なくとも1つの生物学的処置に対して不応性である。RAに適応される生物治療剤の非限定例としては、インフリキシマブ、アダリムマブ(Humira)、セルトリズマブ(Cimzia)、エタネルセプト(Enbrel)、およびゴリムマブ(Simponi)などの腫瘍壊死因子アルファ(TNF)；アナキンラなどのインターロイキン1(IL-1)阻害剤、トシリズマブなどのインターロイキン6(IL-6)阻害剤、アバタセプトなどのT細胞共刺激阻害剤、ならびにリツキシマブ(Rituxan)などの抗CD20抗体が挙げられる。より好ましい実施形態においては、患者は、アダリムマブ(Humira)、セルトリズマブ(Cimzia)、エタネルセプト(Enbrel)、ゴリムマブ(Simponi)、およびインフリキシマブ(Remicade)からなる群より選択される少なくともTNF阻害剤に対して不応性である。別のより好ましい実施形態においては、患者は、アナキンラなどの少なくともIL-1阻害剤に対して不応性である。別のより好ましい実施形態においては、患者は、トシリズマブなどの少なくともIL-6阻害剤に対して不応性である。別のより好ましい実施形態においては、患者は、アバタセプトなどの少なくともT細胞共刺激阻害剤に対して不応性である。別のより好ましい実施形態においては、患者は、リツキシマブ(Rituxan)などの少なくとも抗CD20抗体に対して不応性である。

30

40

【0075】

別の特定の実施形態においては、本発明の予測方法は、患者におけるパラメータがMSCの投与に基づく療法の投与前に決定されることを必要とし、それにより、T細胞増殖能力の増大、 T_{reg} 細胞レベルの減少、 T_{reg} 細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/ T_{reg})の増大および/または単球レベルの増加は、患者がMSCの投与に対する正の応答を示す高い確率を示す

50

。

【0076】

2. オーダーメイド医療の方法

本発明の以前の態様によれば、一連のバイオマーカーの決定は、細胞療法に対する臨床応答を有する感受性がある免疫媒介性炎症疾患を有する患者の同定を可能にする。従って、この情報を、そのような療法を用いる処置から利益を得る患者の同定のために用いることができる。

【0077】

2.1. 療法を受けるべき患者を選択する方法

かくして、別の態様において、本発明は、MSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択する方法、以後、「本発明のオーダーメイド医療の第1の方法」であって、前記患者から得られた血液試料中の単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定することを含み、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/または参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく前記療法を受けるべき前記患者を選択する、前記方法に関する。

10

【0078】

用語「療法」、「患者」、「免疫媒介性炎症疾患」、および「参照値」に関する定義および特定の実施形態は、本発明の予測方法の文脈で詳細に説明されており、本発明のオーダーメイド医療の第1の方法にも同等に適用される。

20

【0079】

特定の実施形態においては、本発明のオーダーメイド医療の第1の方法は、患者を選択するために用いられるパラメータが、MSCの投与に基づく療法の投与前の患者試料中で決定されることを要し、それにより、T細胞増殖能力の増大、 T_{reg} 細胞レベルの減少、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大および/または単球レベルの増加は、患者がMSCの投与に対する正の応答を示す高い確率を示すこと、従って、それがMSCの投与に基づく療法を受けるために選択される候補であることを示す。

【0080】

当業者であれば、本発明のオーダーメイド医療の第1の方法が、本発明の第1、第2および第3の予測方法と共通して患者から採取された試料中の細胞またはバイオマーカーのレベルを決定するステップを有することをすぐに理解できる。従って、本発明の予測方法の決定ステップの特定の好ましい実施形態は、ここでも同等に適用される。

30

【0081】

2.2 患者のための療法を選択する方法

別の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択する方法、以後、「本発明のオーダーメイド医療の第2の方法」であって、前記患者から得られた血液試料中の単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定することを含み、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/または参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、MSCの投与に基づく療法を選択する、前記方法に関する。

40

【0082】

用語「療法」、「患者」、「免疫媒介性炎症疾患」、および「参照値」に関する定義および特定の実施形態は、本発明の予測方法の文脈で詳細に説明されており、本発明のオーダーメイド医療の第1および第2の方法にも同等に適用される。

【0083】

当業者であれば、本発明のオーダーメイド医療の第1および第2の方法が、本発明の予測方法と共通して患者から採取された試料中の細胞またはバイオマーカーのレベルを決定す

50

るステップを有することをすぐに理解できる。従って、本発明の予測方法の決定ステップの特定の好ましい実施形態は、ここでも同等に適用される。

【0084】

3. 本発明の使用

本発明はまた、本発明の予測方法およびオーダーメイド医療の方法の目的のための試薬の使用も企図する。

【0085】

かくして、別の態様において、本発明は、免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるMSCの投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための、単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定するのに好適な試薬を含む、以後、キットの使用に関する。

10

【0086】

特定の実施形態においては、前記キットは、MSCをさらに含む。

【0087】

別の態様において、本発明は、MSCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するため、および/または免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択するための、単球レベル、および/または T_{reg} 細胞レベル、および/または T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、および/またはT細胞増殖能力を決定するのに好適な試薬を含むキットの使用に関する。

20

【0088】

特定の実施形態においては、前記キットは、MSCを含む。

【0089】

用語「療法」、「患者」、および「免疫媒介性炎症疾患」に関する定義および特定の実施形態は、本発明の予測方法の文脈で詳細に説明されており、本発明の使用にも同等に適用される。

【0090】

キットの使用は、本発明の予測方法およびオーダーメイド医療の方法のために特に意図されることが理解される。

【0091】

4. 本発明の治療的使用

30

別の態様において、本発明は、それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置における使用のためのMSCであって、患者が、参照値に対して、MSCの存在下での*in vitro*での培養後、前記患者に由来するT細胞を含有する試料中で、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/または参照値に対するT細胞増殖能力の増大を有する、前記MSCに関する。

【0092】

あるいは、この態様を、それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置のための薬剤の製造のためのMSCの使用であって、患者が、参照値に対して、MSCの存在下での*in vitro*での培養後、前記患者に由来するT細胞を含有する試料中で、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/または参照値に対するT細胞増殖能力の増大を有する、前記使用として再構築することができる。あるいは、この態様を、それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置の方法であって、前記患者へのMSCの投与を含み、患者が、参照値に対して、MSCの存在下での*in vitro*での培養後、前記患者に由来するT細胞を含有する試料中で、参照値に対する単球レベルの増加、および/または参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、および/または参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大、および/または参照値に対するT細胞増殖能力の増大を有する、前記方法として再構築することもできる。

40

【0093】

50

用語「療法」、「患者」、「免疫媒介性炎症疾患」、および「参照値」に関する定義および特定の実施形態は、本発明の予測方法の文脈で詳細に説明されており、本発明の治療的使用にも同等に適用される。

【0094】

本発明のこの態様が、本発明の予測方法によって同定された患者に基づくことがすぐに明らかである。従って、本発明の予測方法の特定の好ましい実施形態も、参照により本明細書に含まれる。

【0095】

本発明のさらなる態様は、

- MSCをさらに含む、本発明によるキットの使用、
- MSCまたはMSCに基づく療法が直腸、経鼻、頬、経膈、皮下、皮内、静脈内、腹腔内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、髄内、病変内、もしくは頭蓋内経路により、または埋込み型リザーバーにより投与される、本発明の予測方法、または本発明のオーダーメイド医療の第1もしくは第2の方法、または本発明によるキットの使用、または本発明による使用のためのMSC、
- 参照値に対する、単球レベル、および/もしくは T_{reg} 細胞レベル、および/もしくは T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、ならびに/またはT細胞増殖能力が、フローサイトメリー、ELISA、およびビーズに基づく技術からなる群より選択される免疫学的技術によって決定される、本発明の予測方法、または本発明のオーダーメイド医療の第1もしくは第2の方法、または本発明によるキットの使用、または本発明による使用のためのMSCを含む。

【0096】

本発明の様々な実施形態は、本明細書に記載の発明を限定するものではなく、例示すると取られるべき以下の実施例によって例示される。

【実施例】

【0097】

材料および方法

患者試験設計および処置

第1の用量の処置の投与後、最大6ヶ月の追跡期間と共に、多施設、一重盲検、固定用量漸増、3処置群、プラセボ対照第1b/11a相臨床試験を行った(EudraCT番号2010-021602-37)。

【0098】

試験薬は、脂肪吸引物から抽出され、乳酸リンゲル液中に懸濁した後、静脈内(IV)輸液として投与される増殖した脂肪由来幹細胞(eASC)からなっていた。46人の患者はeASCを受け、7人の患者はプラセボを受けた。プラセボ群は、乳酸リンゲル液からなっていた。

【0099】

eASCで処置された11人の患者を、試験の終わりでのMRIの結果(RAMRIS)および/またはEULAR応答者の中程度もしくは良好な応答(任意の時点での)に基づいて、ASC投与に対する良好な応答者として選択し、「応答者」と命名した。基準に従って、eASCを用いる処置に対してあまり応答しなかった残りの35人の患者を、「残りの集団」と命名した。

【0100】

試薬および抗体

5(6)-カルボキシフルオレセインジアセテートN-スクシンイミジルエステル(CFSE)は、Sigma-Aldrich(St.Louis, MO)からのものであった。Pan T細胞活性化キット(抗CD3、CD2、CD28被覆ビーズ)は、Milteny Biotech (Bergisch Gladbach, Germany)からのものであった。抗CD3、CD4、CD8、CD14、CD20、CD25、CD69 HLA-DRおよびFOXP3抗体ならびに7-アミノ-アクチノマイシンD(7-AAD)は、Becton Dickinson(San Diego, CA)からのものであった。

【0101】

10

20

30

40

50

eASCおよび末梢血単核細胞

健康なドナーからのヒト脂肪組織吸引物を、他の場所に記載のようにプロセッシングした。同種異系eASC医薬品は、健康なドナーの皮下脂肪組織から抽出された間葉起源の生きている成体幹細胞の細胞懸濁液からなっていた。皮下脂肪組織を、健康なドナーから脂肪吸引し、製造施設に輸送した。寄付、調達、および試験を、Directive 2004/23/ECの要件に従って、従って、Directive 2006/17/ECおよび2006/83/ECの下で実行した。脂肪組織をI型コラゲナーゼで消化した後、遠心分離することにより、ASCを単離した。得られた細胞ペレットを、赤血球溶解溶液中に再懸濁し、溶解し、遠心分離した。細胞ペレットから得られる間質血管画分を、培養培地および抗生物質中、細胞培養容器に入れ、37 °Cおよび5% CO₂で、加湿雰囲気中でインキュベートした。塗布後24~48hで、培養培地を除去して、結合しなかった細胞画分を除去した。ASCはプラスチック培養プレートに接着し、in vitro条件下で増殖させた。3~4日毎に、90~95%集密に達した後、培養培地を交換し、細胞をトリプシン/EDTAで剥離させ、収集し、遠心分離し、必要な回数、抗生物質なしに増殖させた。次いで、それらを収獲し、使用まで凍結保存した。指定された投与日の前に、十分な凍結保存バイアルを解凍して、投与のための必要な用量を提供した。用いたeASCは全て、その臨床使用にとって必要とされる同一性、純度および効力の放出基準を満たしていた。

【0102】

末梢血単核細胞(PBMC)を、供給業者のプロトコールに従ってFicoll-paque Plus (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Sweden)を用いて、National Transfusion Centre of the Comunidad Autonoma of Madrid, Spainにより親切に提供された軟膜から単離した。簡単に述べると、血液試料を、平衡塩類溶液で希釈し、Ficollを添加して、密度勾配を作成した。遠心分離した後、単核細胞を含有する界面を、穏やかに収集した。

【0103】

EDTA-血液を、最初のeASCまたはプラセボ投与の開始時で、eASCの輸注の直前に、その4および12週間後に、患者から収集した。全血の画分を、フローサイトメトリーによる多パラメータ細胞分析のために選択した。T細胞(CD3⁺)、ヘルパーT細胞CD4⁺CD3⁺、細胞傷害性T細胞CD8⁺CD3⁺、調節性T細胞(CD3⁺CD4⁺CD25⁺foxp3⁺)、NK細胞(CD16⁺CD56⁺)、B細胞(CD20⁺)、および単球(CD14⁺)を試験した。残りの血液を遠心分離し、血漿を収集し、さらなる使用のために保存した。細胞ペレットを、Ficoll勾配遠心分離(Histopaque 1077; Sigma-Aldrich Corp, St Louis, Missouri)によるPBMC単離のためにプロセッシングした。次いで、細胞を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で3回洗浄し、使用まで保存した。

【0104】

可溶性メディエータの血漿レベル

Affymetrixからの磁気ビーズを、EDTAチューブ中に収集された血漿試料中で用いて、複数のタンパク質バイオマーカーの同時測定のためにLuminex(登録商標)xMAP(登録商標)技術に基づく定量的多重化イムノアッセイを実施した。15種の炎症メディエータ(IL1-b、sIL-1RA、IL-2、IL4、IL-6、IL-8、IL10、IL12p70、IL17-A、IL23、IFN- γ 、TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β およびsCD-40L)を、試験のために選択した。TGF- β について分析した血漿試料を、37 °Cで10minインキュベートした1N HClで酸性化し、1.2N NaOH/0.5M HEPESを添加することによりさらに中和した。製造業者の指示書に従って、アッセイを実施した(AffymetrixからのProcarta(登録商標)イムノアッセイ)。

【0105】

リンパ球増殖アッセイ

アッセイを、96ウェルの平底プレート中で実施した。健康なドナーとRA患者の両方に由来するPBMCを、CFSEで標識し、10%FCS、グルタミン、およびペニシリン-ストレプトマイシン(Biological Industries)を含有するRPMI(Roswell Park Memorial Institute)組織培養培地中、 2×10^5 個/ウェルでさらに播種し、抗CD3+CD2+CD28被覆ビーズ(MyIteny Biotech)で刺激した。細胞を、37 °Cで5%CO₂の加湿雰囲気中、120時間、eASCの存在下または非存在下で培養した(それぞれ 2×10^5 個のPBMCあたり 4×10^3 個のeASC、1:50比)。細胞を収獲し、増殖をCFSE希釈分析により測定した。FCSExpressソフトウェアを、分裂指数(分裂指数:分

10

20

30

40

50

裂細胞になる細胞の平均数。Nはある世代における細胞数である。 $\sum_{i=1}^{P-1} N_i / \sum_{i=1}^{P-1} N_i / 2$ (式中、i=対応する世代数;P=認められるピークの総数である))を算出するために用いた。活性化されたPBMCが到達し得る最大増殖に対する正規化に基づいて、増殖のパーセンテージも算出した。

【0106】

eASCリコール時のT細胞上の活性化マーカーの改変

CD69およびHLA-DR活性化マーカーの発現を、処置前の患者のT細胞において測定した。さらに、PBMCを、刺激の非存在下で24時間、eASCと接触させて、または接触させずに、一晚休止のままにした。CD69およびHLA-DRの表面発現を、ゲート化されたCD3+T細胞集団上で再度分析した。両方の活性化マーカーの発現を、eASCの非存在下および存在下で培養した試料中で比較した。

【0107】

統計分析

変数を、非正規分布として四分位範囲(p75上縁、p25下縁、p50中線)、p95(箱上の線)、およびp5(箱下の線)として提示した。非パラメータ技術(Mann-WhitneyのU検定)を用いて、2群間の分布を比較した。連続変数(増殖の阻害の用量およびパーセンテージ)間の相関を、Spearman検定を用いて決定した。

【0108】

〔実施例1〕

末梢血中の細胞分布および血漿サイトカイン

末梢血細胞を、ベースライン時に、ならびに最初のeASCまたはプラセボ投与の4および12週間後に、試験に登録された53人の患者から取得した。T細胞(CD3+)、Th細胞(CD3+CD4+)、Tc細胞(CD3+CD8+)、NK細胞(CD3-CD56+)、B細胞(CD20+)、単球(CD14+)およびT_{reg}細胞(CD4+CD25b+FOXP3+)のパーセンテージを測定し、プラセボとeASC処置患者との間で比較した(図1)。

【0109】

結果は、ASCまたはプラセボ投与後にT細胞集団に有意な変化を示さなかった(CD4もCD8もない)。同様に、NK細胞およびB細胞のパーセンテージは、プラセボ群とeASC群の両方において処置後にいかなる改変も示さなかった。単球集団においては顕著な変化が観察された:単球はプラセボ群においてはW4で増加し、W12で減少したが、eASC処置群においては単球の減少はW4とW12の間で維持された。興味深いことに、T_{reg}区画は、ベースラインと比較してW12で処置群において有意に減少したが(p=0.018)、プラセボ群においては変化が認められなかった(図1)。

【0110】

ベースライン時および第4週での患者由来血漿を、可溶性因子の分析のために用いた。炎症メディエータのパネル(IL1-b、sIL-1RA、IL-2、IL4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17、IL-23、IFN- γ 、TNF- α 、IFN- β 、TGF- β およびsCD-40L)を測定した。結果は、いくつかのサイトカインの濃度が検出限界に非常に近く(すなわち、IFN- β 、IL-10、IL-12-p70、IL-17、IFN- β 、IL-1 β 、IL-1R α)、比較は信頼できないことを示していた。興味深いことに、TGF- β レベルは、eASC処置群において、ベースラインと比較して第4週で統計的に有意に増加した(p<0.001)(図2)。測定した他のサイトカインについては、プラセボ群においても、eASC群においても、ベースラインと第4週の間で統計的な差は認められなかった。

【0111】

〔実施例2〕

応答者および残りの集団における試験:循環細胞および血漿サイトカイン

eASCで処置された46人の患者を、試験の終わりでのMRIの結果(RAMRIS)および/または任意の時点でのEULAR応答者の中程度もしくは良好な応答に基づいて2群に分割した(図3)。彼らのうち、11人の患者は、eASC処置時に正の臨床応答を有し、「応答者」群と命名した。残りのeASC処置患者は、「残りの集団」と命名され、対照として役立った。循環T細胞(

10

20

30

40

50

CD4+とCD8+の両方)、NK細胞、単球および T_{reg} は、応答者集団においては訪問時に依然として安定であり、 T_{reg} 細胞の中央値の増大に向かう傾向のみを観察することができたが、「残りの集団」においては、W4($p=0.0497$)での単球およびW12($p=0.0108$)での T_{reg} において有意な減少が認められた(図4)。

【0112】

興味深いことに、循環中の2つの細胞サブセットのベースラインレベルは、「応答者」と「残りの集団」との間で異なっていた:「応答者」患者は、「残りの集団」よりも高頻度の単球および低頻度の T_{reg} を有していた(図5)。さらに、 $CD4^+$ 細胞/ T_{reg} 細胞比の算出はその差異を増強し、 $CD4$ 細胞に対する T_{reg} の数は「応答者群」において有意に低かった($p=0.0438$)ことを示す。これは、「応答者」集団は、より低い T_{reg} およびより高い単球と関連する異なるベースライン免疫状態を有することを示している。

10

【0113】

TGF- β の血漿レベルは、「応答者」群と「残りの集団」の両方において処置後に有意に増加したが、これは、TGF- β が臨床応答と直接関連しないが、eASC投与の結果であることを示唆している(図6)。測定した残りのサイトカインにおいては、ベースラインとW4との間で統計的有意差は認められなかった。

【0114】

〔実施例3〕

in vitroでのT細胞の増殖能力

刺激時のT細胞増殖能力を、ベースライン時および処置後(第4週)にRA集団において試験し、健康な対照と比較した。CFSEで標識されたPBMCを、120時間、抗CD3/CD2/CD28被覆ビーズの存在下で培養し、CFSE追跡分析によりT細胞増殖を測定した。結果は、患者のT細胞の分裂指数(D.I.)は健康な対照よりも有意に高いことを示していた($p=0.031$)(図7A)。健康なボランティアに由来する値よりもRA群から得られた値においてはるかに高い不均一性が存在し、T細胞機能がこの不応性患者集団において均一ではないことを示していることに言及することは興味深い。さらに、本発明者らは、患者のT細胞の増殖能力がeASC処置の前後で同等であることを証明したが、これは、eASC処置の結果としてのT細胞増殖能力の改変を認めることができないことを示している。さらに、本発明者らは、RA患者に由来するT細胞がin vitroでeASC抗増殖効果の影響を受けやすいかどうかを試験すること;ベースライン患者PBMCをCFSE標識し、eASCの存在下または非存在下で刺激および培養したことに対処することを目標とした。結果は、T細胞増殖が、eASCが培養物中に存在する場合に有意に阻害されることを示したが、これは、処置後のT細胞増殖能力の改変は見かけ上ないが、患者のT細胞がeASCのin vitroでの作用に反応したことを証明している(図7B)。

20

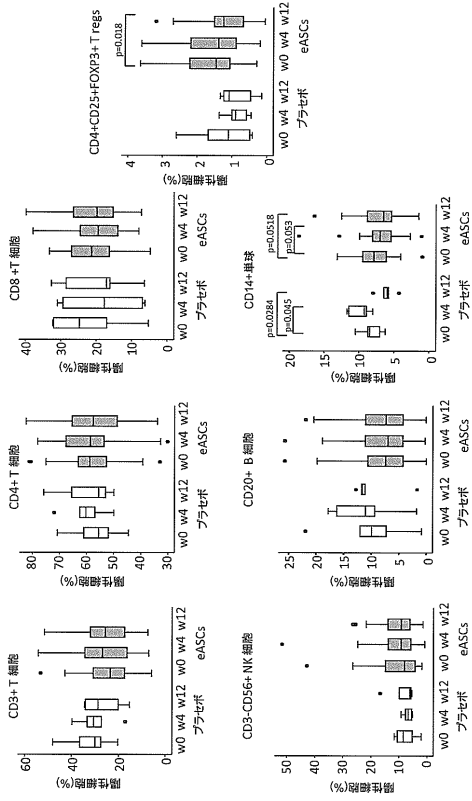
30

【0115】

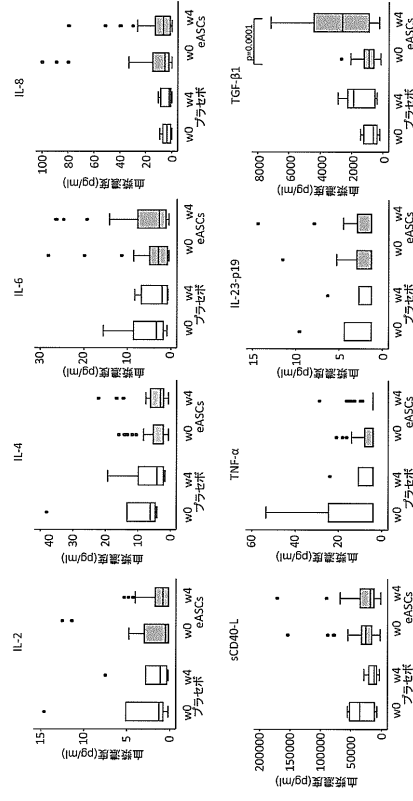
興味深いことに、「応答者」と「残りの集団」との比較により、eASC処置後の「応答者」のT細胞の増殖の減少の明確な示唆(統計的に有意ではない)が得られたが、D.I.は「残りの集団」においては改変されなかった(図7C)。また、ベースライン時に、「応答者」のT細胞の増殖能力は「残りの集団」よりも高い傾向があったことがわかることも重要である。

40

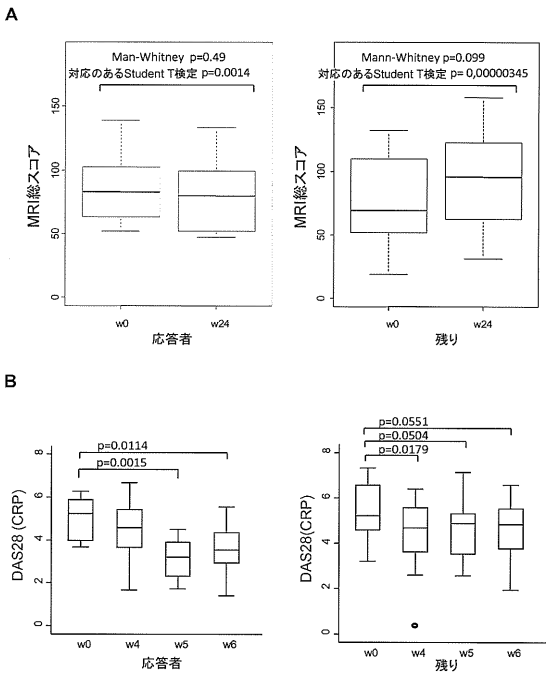
【 図 1 】



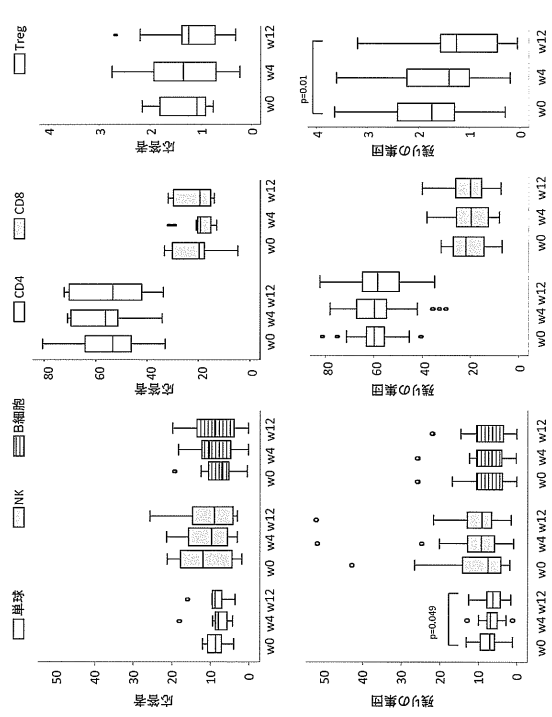
【 図 2 】



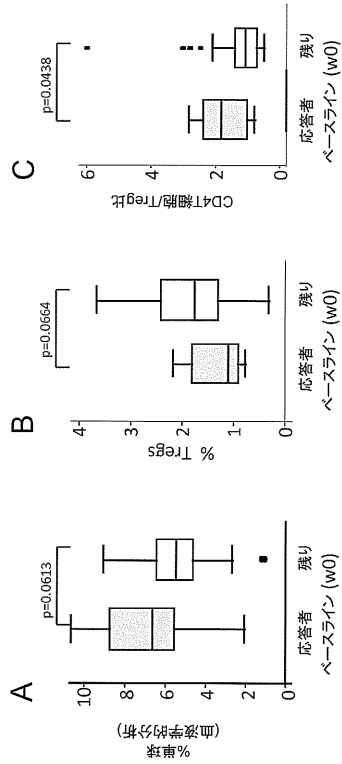
【 図 3 】



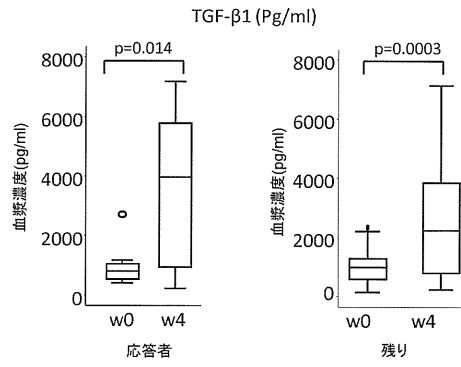
【 図 4 】



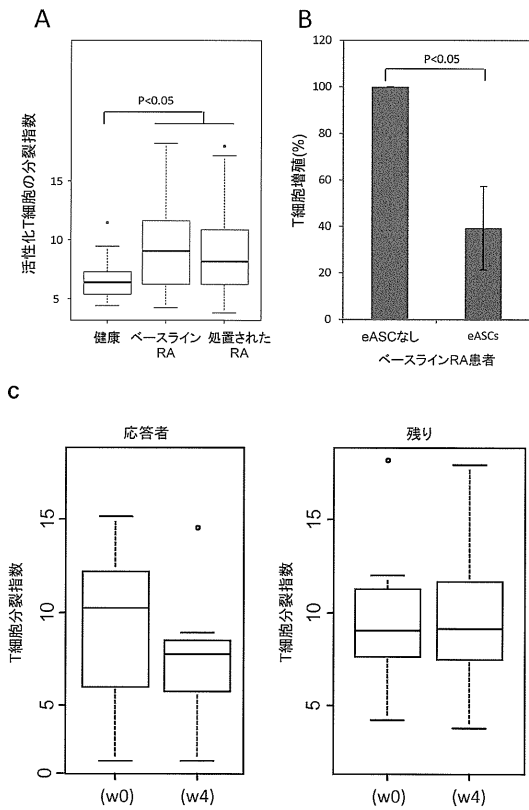
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【手続補正書】

【提出日】平成29年7月17日(2017.7.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者における脂肪組織由来間質幹細胞(ASC)の投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するための方法であって、

患者由来試料中で、

i)単球レベル、

ii)T_{reg}細胞レベル、

iii)T_{reg}細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/T_{reg})、及び

iv)T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、ASCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における単球レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対するT_{reg}細胞レベルの減少が、ASCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT_{reg}細胞レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対する、T_{reg}細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/T_{reg})の増大が、ASCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT_{reg}細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/T_{reg})の値から得られたものであり、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、ASCの投与に基づく前記療法に対する臨床応答を示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT細胞増殖能力の値から得られたものであり、

ASCの投与が静脈内である、

前記方法。

【請求項2】

ASCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するための方法であって、

患者由来試料中で、

i)単球レベル、

ii)T_{reg}細胞レベル、

iii)T_{reg}細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/T_{reg})、及び

iv)T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、患者がASCの投与に基づく前記療法を受ける候補者であることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における単球レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対するT_{reg}細胞レベルの減少が、患者がASCの投与に基づく前記療法を受ける候補者であることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT_{reg}細胞レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対する、T_{reg}細胞に対するCD4⁺T細胞の比(CD4⁺/T_{reg})の増大が、患者がASCの投与に基づく前記療法を受ける候補者であることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT_{reg}細胞に対するCD4⁺T

細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の値から得られたものであり、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、患者がASCの投与に基づく前記療法を受ける候補者であることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT細胞増殖能力の値から得られたものであり、ASCの投与が静脈内である、

前記方法。

【請求項3】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択する方法であって、患者由来試料中で、

- i) 単球レベル、
- ii) T_{reg} 細胞レベル、
- iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、及び
- iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定することを含み、

- 参照値に対する前記試料中の単球レベルの増加が、ASCの投与に基づく前記療法が前記患者の処置のために選択されることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における単球レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少が、ASCの投与に基づく前記療法が前記患者の処置のために選択されることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における T_{reg} 細胞レベルの値から得られたものであり、

- 参照値に対する、 T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の増大が、ASCの投与に基づく前記療法が前記患者の処置のために選択されることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の値から得られたものであり、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大が、ASCの投与に基づく前記療法が前記患者の処置のために選択されることを示し、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT細胞増殖能力の値から得られたものであり、ASCの投与が静脈内である、

前記方法。

【請求項4】

免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者におけるASCの投与に基づく療法に対する臨床応答を予測するため、及び/又はASCの投与に基づく療法を受けるべき免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を選択するため、及び/又は免疫媒介性炎症疾患に罹患する患者を処置するための療法を選択するための、

- i) 単球レベル、
- ii) T_{reg} 細胞レベル、
- iii) T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)、及び
- iv) T細胞増殖能力

から成る群より選択される少なくとも1つのパラメータを決定するのに好適な試薬を含むキットの使用であって、ASCの投与が静脈内である、前記使用。

【請求項5】

前記免疫媒介性炎症疾患が関節リウマチである、請求項1～3のいずれか1項記載の方法又は請求項4記載の使用。

【請求項6】

前記関節リウマチが不応性である、請求項5記載の方法又は使用。

【請求項7】

ASCが同種異系幹細胞である、請求項1～3のいずれか1項記載の方法又は請求項4記載の使用。

【請求項 8】

ASCが増殖したASCである、請求項 7 記載の方法又は使用。

【請求項 9】

試料が生物流体又はT細胞を含有する試料である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の方法又は使用。

【請求項 10】

それを必要とする患者における免疫媒介性炎症疾患の処置における使用のためのASCであって、

前記患者が、

- 参照値に対する単球レベルの増加、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における単球レベルの値から得られたものである、

- 参照値に対する T_{reg} 細胞レベルの減少、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における T_{reg} 細胞レベルの値から得られたものである、

- 参照値に対する $CD4^+/T_{reg}$ 比の増大、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料における T_{reg} 細胞に対する $CD4^+$ T細胞の比($CD4^+/T_{reg}$)の値から得られたものである、

- 参照値に対するT細胞増殖能力の増大、ここで、参照値は、ASCの投与に基づく療法に应答しない1以上の患者由来の血液試料におけるT細胞増殖能力の値から得られたものである、

を有し、ASCの投与が静脈内である、前記ASC。

【請求項 11】

患者が請求項 2 又は 5 ~ 9 のいずれか 1 項記載の方法を用いて選択された、請求項 10 記載の使用のためのASC。

【請求項 12】

使用が請求項 2 又は 5 ~ 9 のいずれか 1 項記載の方法を用いて患者を選択することを含む、請求項 10 記載の使用のためのASC。

【請求項 13】

ASCが同種異系幹細胞である、請求項 12 記載の使用のためのASC。

【請求項 14】

ASCが増殖したASCである、請求項 10 ~ 13 のいずれか 1 項記載の使用のためのASC。

【請求項 15】

前記免疫媒介性炎症疾患が関節リウマチである、請求項 10 ~ 14 のいずれか 1 項記載の使用のためのASC。

【請求項 16】

前記関節リウマチが不応性である、請求項 15 記載の使用のためのASC。

【請求項 17】

患者が少なくとも1つの生物学的処置に対して不応性である、請求項 16 記載の使用のためのASC。

【請求項 18】

前記少なくとも1つの生物学的処置が、TNF- α 、IL-1、IL-6又はT細胞共刺激阻害剤、又は抗CD20抗体である、請求項 17 記載の使用のためのASC。

【請求項 19】

前記TNF- α 阻害剤がアダリムマブ(Humira)、セルトリズマブ(Cimzia)、エタネルセプト(Enbrel)、ゴリムマブ(Simponi)、リツキシマブ(Rituxan)及びインフリキシマブ(Remicade)から成る群より選択されるか、又は前記IL-1阻害剤がアナキンラであるか、又は前記IL-6阻害剤がトシリズマブであるか、又は前記T細胞共刺激阻害剤がアバタセプト(orencia)であるか、又は前記抗CD20抗体がリツキシマブ(Rituxan)である、請求項 18 記載の使用のためのASC。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/059196

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/50 A61K35/28 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) G01N A61K		
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, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Anonymous: "e-Newsletter ESGCT and SETGyC Collaborative Congress Consortium Participation", Internet Article, 25 October 2013 (2013-10-25), pages 1-12, XP055201250, Retrieved from the Internet: URL: http://www.regenerar.eu/sites/default/files/REGENERAR_newsletter%202014%20-ESCGT.pdf [retrieved on 2015-07-09] the whole document in particular section "stem cell therapy for RA" starting on page 7 ----- -/--	1-22
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search 22 September 2016		Date of mailing of the international search report 17/10/2016
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 Weber, Peter

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2016/059196

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 2014/140362 A2 (TIGENIX S A U [ES]; TIGENIX NV [BE]) 18 September 2014 (2014-09-18) the whole document, in particular page 4, line 10 to page 5, line 22; page 12, lines 13-18; Example 1; claims 1-11; figures 1, 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-22
A	<p>OLGA DELAROSA ET AL: "Mesenchymal stem cells as therapeutic agents of inflammatory and autoimmune diseases", CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY, vol. 23, no. 6, 1 December 2012 (2012-12-01), pages 978-983, XP055096416, ISSN: 0958-1669, DOI: 10.1016/j.copbio.2012.05.005 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2016/059196**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2016/ 059196

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-22(partially)

Method of predicting the clinical response to a therapy based on the administration of MSCs in a patient suffering from an immune-mediated inflammatory disease or method of selecting patients for treatment or method of selecting a therapy for treating a patient using an increased level of monocytes as marker. Corresponding use of a kit comprising reagents suitable for the determination of the above marker for the above purposes. Corresponding medical use of the MSCs.

1.1. claims: 1-22(partially)

Method of predicting the clinical response to a therapy based on the administration of MSCs in a patient suffering from an immune-mediated inflammatory disease or method of selecting patients for treatment or method of selecting a therapy for treating a patient using a decreased level of Treg cells as marker. Corresponding use of a kit comprising reagents suitable for the determination of the above marker for the above purposes. Corresponding medical use of the MSCs.

1.2. claims: 1-22(partially)

Method of predicting the clinical response to a therapy based on the administration of MSCs in a patient suffering from an immune-mediated inflammatory disease or method of selecting patients for treatment or method of selecting a therapy for treating a patient using an increased ratio of CD4+ T cells to Treg cells as marker. Corresponding use of a kit comprising reagents suitable for the determination of the above marker for the above purposes. Corresponding medical use of the MSCs.

2. claims: 1-22(partially)

Method of predicting the clinical response to a therapy based on the administration of MSCs in a patient suffering from an immune-mediated inflammatory disease or method of selecting patients for treatment or method of selecting a therapy for treating a patient using an increased T cell proliferation capacity as marker. Corresponding use of a kit comprising reagents suitable for the determination of the above marker for the above purposes. Corresponding medical use of the MSCs.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2016/059196

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014140362 A2	18-09-2014	AU 2014230014 A1	29-10-2015
		CA 2906299 A1	18-09-2014
		EP 2972368 A2	20-01-2016
		JP 2016516985 A	09-06-2016
		SG 11201507521U A	29-10-2015
		US 2016067285 A1	10-03-2016
		WO 2014140362 A2	18-09-2014

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
 C 1 2 Q 1/02 (2006.01) C 1 2 Q 1/02

(81) 指定国 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ダレマンズ, ウィルフリード
 スペイン国 イー - 2 8 7 6 0 トレス カントス, パルケ テクノロヒコ デ マドリード, マ
 ルコーニ 1, ティジェニクス エス. エー. ユー.

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ08 QR48 QS33 QX02
 4C087 AA01 AA02 BB64 CA04 MA56 MA57 MA59 MA60 MA66 MA67
 NA05 ZA96 ZB07 ZB11 ZB15

专利名称(译)	用于确定对细胞疗法的临床反应的生物标志物		
公开(公告)号	JP2018513388A	公开(公告)日	2018-05-24
申请号	JP2017555636	申请日	2016-04-25
[标]申请(专利权)人(译)	茶杰弗里·尼克斯ES金		
申请(专利权)人(译)	Tijenikusu上课呃.羽.		
[标]发明人	デラローサオルガ ダレマンズウィルフリード		
发明人	デラローサ,オルガ ダレマンズ,ウィルフリード		
IPC分类号	G01N33/53 A61K35/28 A61P19/02 A61P29/00 A61P37/02 C12Q1/02		
CPC分类号	A61K35/28 A61P19/02 A61P29/00 A61P37/02 G01N33/5094 G01N2333/705 G01N2333/70539 G01N2800/52 G01N33/6893 G01N2333/70578 G01N2333/715 G01N2333/7155 G01N2333/7156		
FI分类号	G01N33/53.Y A61K35/28 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P37/02 C12Q1/02		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QS33 4B063/QX02 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB64 4C087/CA04 4C087/MA56 4C087/MA57 4C087/MA59 4C087/MA60 4C087/MA66 4C087/MA67 4C087/NA05 4C087/ZA96 4C087/ZB07 4C087/ZB11 4C087/ZB15		
优先权	2015382206 2015-04-24 EP		
其他公开文献	JP2018513388A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及基于在免疫介导的炎性疾病患者中施用间充质干细胞 (MSC) 来预测对治疗的临床反应的方法。本发明还涉及MSC在患有免疫介导的炎性疾病的患者中的个性化医学方法和治疗用途。 [选择图]图5

