

(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2018-537118

(P2018-537118A)

(43) 公表日 平成30年12月20日 (2018. 12. 20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6851 Z	2 G 0 4 5
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G 0 1 N 33/68	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6837 Z	4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6869 Z	4 C 0 8 1
A 6 1 K 35/407 (2015.01)	A 6 1 K 35/407	4 C 0 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2018-536711 (P2018-536711)
 (86) (22) 出願日 平成28年10月5日 (2016. 10. 5)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年5月30日 (2018. 5. 30)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/055411
 (87) 国際公開番号 W02017/062401
 (87) 国際公開日 平成29年4月13日 (2017. 4. 13)
 (31) 優先権主張番号 62/237, 248
 (32) 優先日 平成27年10月5日 (2015. 10. 5)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 518115230
 オリジエン, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
 2 1 O, ボストン, ドライドック ア
 ベニュー 2 7, 6 ティーエイチ フロ
 ア
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74) 代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74) 代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肝機能不全の同定および緩和に基づくパーキンソン病の診断および処置

(57) 【要約】

パーキンソン病を診断するか、またはパーキンソン病を発生させるリスクを同定するための方法が開示され、上記方法は、血液サンプル、肝臓サンプル、もしくは肝細胞中の生体分子の量を測定する工程を包含する。パーキンソン病を防止もしくは処置するための方法もまた開示され、上記方法は、治療上有効な複数の肝細胞を、その必要性のある被験体に投与する工程を包含する。いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を処置するための治療剤を同定するための方法に関する。

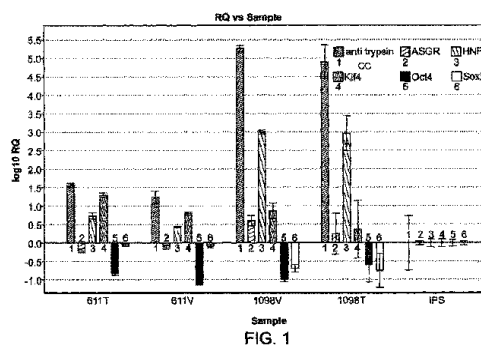


FIG. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

パーキンソン病を診断するための方法であって、該方法は、

被験体から採取した血液サンプル、該被験体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞を提供する工程であって、ここで該肝細胞は、該被験体から採取した非肝細胞の細胞から生成され、次いで、該肝細胞へと分化される、工程；

該血液サンプル、該肝臓サンプル、もしくは該肝細胞中の生体分子の量を測定する工程；ならびに

該生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、該個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合に、該被験体を、パーキンソン病を有すると診断する工程であって、ここで該肝細胞は、該個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、該肝細胞へと分化される、工程；を包含し、ここで該生体分子は、タンパク質もしくはRNAである、方法。

10

【請求項 2】

パーキンソン病を発生させるリスクを同定するための方法であって、該方法は、

被験体から採取した血液サンプル、該被験体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞を提供する工程であって、ここで該肝細胞は、該被験体から採取した非肝細胞の細胞から生成され、次いで、該肝細胞へと分化される、工程；

該血液サンプル、該肝臓サンプル、もしくは該肝細胞中の生体分子の量を測定する工程；および

20

該生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、該個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合、パーキンソン病を発生させるリスクにあると該被験体を同定する工程であって、ここで該肝細胞は、該個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、該肝細胞へと分化される、工程；

を包含し、ここで該生体分子は、タンパク質もしくはRNAである、方法。

【請求項 3】

肝細胞が、提供され；該肝細胞を前記細胞から生成する工程は、多能性幹細胞を該細胞から生成する工程；および該多能性幹細胞を肝細胞へと分化させ、それによって、該肝細胞を生成する工程を包含する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

30

【請求項 4】

前記細胞は、末梢血単核細胞である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記細胞は、線維芽細胞である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

前記細胞は、幹細胞である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

前記細胞は、前記被験体から直接得られていない、請求項 3 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

血液サンプルが提供される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

40

【請求項 9】

肝臓サンプルが提供される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 10】

前記生体分子は、アルブミンもしくはアルブミンをコードするRNAである、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記生体分子は、アンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子 4、またはアンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子 4 をコードするRNAである、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 12】

前記生体分子は、シトクロム P 4 5 0 I I D 6、シトクロム P 4 5 0 M P、シトクロム P 4 5 0 P A、システインジオキシゲナーゼ、またはシトクロム P 4 5 0 I I D 6、シトクロム P 4 5 0 M P、シトクロム P 4 5 0 P A、もしくはシステインジオキシゲナーゼをコードする R N A である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記生体分子は、R N A であり、該生体分子の量は、P C R を使用して測定される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記生体分子は、R N A であり、該生体分子の量は、マイクロアレイ分析もしくは配列決定を使用して測定される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 15】

前記生体分子は、タンパク質であり、該生体分子の量は、フローサイトメトリー、磁性活性化セルソーティング、もしくはイムノアッセイを使用して測定される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

パーキンソン病を処置するための治療剤を同定するための方法であって、該方法は、

(a) 第 1 の肝細胞と化合物もしくは組成物とを接触させる工程；

(b) 該第 1 の肝細胞によって生成される生体分子の量を測定する工程；

(c) 該第 1 の肝細胞によって生成される該生体分子の量と、コントロール肝細胞によって生成される該生体分子の量とを比較する工程であって、ここで該コントロール肝細胞は、該第 1 の肝細胞と同じ供給源に由来するが、該化合物もしくは組成物と接触されていない工程；および

20

(d) 該第 1 の肝細胞によって生成される該生体分子の量が、該コントロール肝細胞によって生成される該生体分子の量とは異なる場合、該化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程；

を包含し、

ここで該第 1 の肝細胞は、パーキンソン病と一致する遺伝子型もしくは表現型を有し；該生体分子は、タンパク質もしくは R N A であり；該第 1 の肝細胞によって生成される該生体分子の量は、パーキンソン病の非存在と一致する遺伝子型もしくは表現型を有するコントロール肝細胞によって生成される該生体分子の量へのシフトを反映する、方法。

30

【請求項 17】

前記第 1 の肝細胞は、多能性幹細胞に由来する、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記肝細胞は、化合物と接触され、該化合物は、低分子である、請求項 16 または 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記肝細胞は、組成物と接触され、該組成物は、生物製剤を含む、請求項 16 または 17 に記載の方法。

40

【請求項 20】

前記生物製剤は、C R I S P R / C a s、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、もしくは転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記生体分子は、アルブミンもしくはアルブミンをコードする R N A である、請求項 16 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

前記生体分子は、アンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子 4、またはアンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子 4 をコードする R N A である、請求項 16 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

50

前記生体分子は、シトクロム P 4 5 0 I I D 6、シトクロム P 4 5 0 M P、シトクロム P 4 5 0 P A、もしくはシステインジオキシゲナーゼ、またはシトクロム P 4 5 0 I I D 6、シトクロム P 4 5 0 M P、シトクロム P 4 5 0 P A、もしくはシステインジオキシゲナーゼをコードする R N A である、請求項 1 6 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記第 1 の肝細胞は、ヒト肝細胞である、請求項 1 6 ~ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 5】

パーキンソン病を防止もしくは処置するための方法であって、該方法は、治療上有効な複数の肝細胞をその必要性のある被験体に投与する工程を包含する、方法。

10

【請求項 2 6】

前記肝細胞は、パーキンソン表現型を含まない、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記肝細胞は、パーキンソン病と一致する表現型を有する肝細胞より多いアルブミンを生成する、請求項 2 5 または 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記肝細胞は、パーキンソン病と一致する表現型を有する肝細胞より多くのアンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子 4 を生成する、請求項 2 5 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記肝細胞は、パーキンソン病と一致する表現型を有する肝細胞より多いシトクロム P 4 5 0 I I D 6、シトクロム P 4 5 0 M P、シトクロム P 4 5 0 P A、もしくはシステインジオキシゲナーゼを生成する、請求項 2 5 ~ 2 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 3 0】

前記肝細胞は、前記被験体から採取した細胞に由来する、請求項 2 5 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記肝細胞のゲノムは、編集されている、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記肝細胞のゲノムは、C R I S P R / C a s、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、もしくは転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼによって編集されている、請求項 3 1 に記載の方法。

30

【請求項 3 3】

前記肝細胞は、前記被験体から採取した細胞に由来しない、請求項 2 5 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記肝細胞は、多能性幹細胞に由来する、請求項 2 5 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記多能性幹細胞は、末梢血単核細胞もしくは線維芽細胞に由来する、請求項 3 4 に記載の方法。

40

【請求項 3 6】

前記肝細胞は、前記被験体の肝臓へと挿入することによって投与される、請求項 2 5 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記肝細胞は、肝門脈に挿入される、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記被験体は、哺乳動物である、請求項 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記被験体は、ヒトである、請求項 3 8 に記載の方法。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の引用

本願は、2015年10月5日出願した米国仮出願第62/237,248号（これは、その全体がこれにより参考として援用される）に対する優先権の利益を主張する。

【背景技術】

【0002】

背景

パーキンソン病は、高齢集団において発生が増加する運動障害である。それは、高齢者の一般的な身体障害性疾患であり、米国において60歳を超える人口のうちの約1%に影響を及ぼす。パーキンソン病の発生率は、年齢とともに増加し、この疾患を発生させる個体の累積生涯リスクは、40人に約1人である。症状としては、四肢の顕著な振戦、動作緩慢、強直および姿勢変化が挙げられる。パーキンソン病の仮定される病態生理的原因是、黒質緻密部（脳幹に位置した基底核）を含む大脳基底核におけるドパミン生成細胞の進行性の破壊である。

10

【0003】

パーキンソン病は、軽度の四肢硬直、および希に起こる振戦で始まり得、10年もしくはこれより長い年数にわたって頻繁な振戦および記憶障害へと進行し、制御不能な振戦および認知症へと至る進行性の障害である。

20

である。

【0004】

この疾患の原因に関する研究は、大部分は、変化遺伝学（altered genetics）および神経機能の変化の領域にあった。現在は、パーキンソン病に利用可能な臨床検査は存在しないので、この疾患は、臨床症状に基づいて診断される。

【0005】

パーキンソン病に関する公知の治療は存在しない。パーキンソン病と診断された患者に処方される利用可能な薬物療法は、それらの症状のうちのいくつかを軽減し得る。いくつかの薬物療法は、ドパミンへの前駆体からなる。その前駆体は、ニューロンによって取り込まれ、ドパミンへと変換されて、脳の中で低下したドパミン量を補う。上記疾患のより後のステージでは、この対症療法は、代表的には、もはや有効ではない。従って、新たな治療薬が強く必要である。

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

要旨

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を診断するための方法に関する。いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を発生させるリスクを同定するための方法に関する。ある特定の実施形態において、上記方法は、被験体から採取した血液サンプル、被験体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞を提供する工程を包含し、ここで上記肝細胞は、上記被験体から採取した非肝細胞の細胞から生成され、次いで、上記肝細胞へと分化される。ある特定の実施形態において、上記方法は、上記血液サンプル、上記肝臓サンプル、もしくは上記肝細胞中の生体分子の量を測定する工程を包含する。上記方法は、例えば、上記生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、パーキンソン病と診断された個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量と匹敵する場合、パーキンソン病を有すると上記被験体を診断する工程を包含し得、ここで上記肝細胞は、パーキンソン病と診断された個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。上記方法は、例えば、上記生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、パーキンソン病と診断された個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞

40

50

中に存在する量と匹敵する場合、パーキンソン病を発生させるリスクにあるとして上記被験体を同定する工程を包含し得、ここで上記肝細胞は、パーキンソン病と診断された個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。上記生体分子は、例えば、タンパク質もしくはRNA分子であり得る。

【0007】

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を処置するための治療剤を同定するための方法に関する。上記方法は、第1の肝細胞と化合物もしくは組成物とを接触させる工程、および上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量を測定する工程を包含し得る。上記方法は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量と、コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量とを比較する工程を包含し得る。上記方法は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量が、上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量とは異なる場合、上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程を包含し得る。例えば、上記第1の肝細胞およびコントロール肝細胞は、パーキンソン病と一致する遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、そして化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量と上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量との間の差異を同定する工程を包含し得、ここで上記第1の肝細胞は、健康な肝細胞によって生成される量に類似でありかつ上記コントロール肝細胞によって生成される量とは異なる生体分子の量を生成する。上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量において、上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量から離れるシフトを同定する工程を包含し得る。すなわちここで上記シフトは、健康な肝細胞が生成する上記生体分子の量の近くへのシフトである。上記生体分子は、例えば、タンパク質もしくはRNAであり得る。

【0008】

同様に、上記第1の肝細胞は、パーキンソン病と一致する遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、上記コントロール肝細胞は、非パーキンソン病の遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量の減少を同定する工程を包含し得る。従って、上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量において上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量へのシフトを同定する工程を包含し得る。すなわちここで上記シフトは、上記第1の肝細胞と上記化合物もしくは組成物とを接触させる前の上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量から離れる。上記生体分子は、例えば、タンパク質もしくはRNAであり得る。

【0009】

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を防止もしくは処置するための方法に関し、上記方法は、治療上有効な複数の肝細胞をその必要性のある被験体に投与する工程を包含する。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】図1は、コントロールのヒトサンプル(1098)およびパーキンソン患者のサンプル(611)から分化した肝細胞における特徴的な肝マーカーの遺伝子発現分析を示す。特異的肝マーカー(アンチトリプシン、HNF4およびASGR)mRNAを、qRT-PCRを使用して測定した。各マーカーをGAPDHに対して正規化し、相対的变化を、親ヒトIPS細胞株と比較して表した。多能性遺伝子であるOct4およびSox2は、有意にダウンレギュレートされた。

【図2】図2は、コントロールヒトサンプル(1098)およびパーキンソン患者のサンプル(611)に由来するヒトIPS由来肝細胞によるアルブミン分泌を示す。アルブミン分泌は、肝細胞の十分に確立された機能的尺度である。馴化培地を24時間後に集め

10

20

30

40

50

、アルブミンレベルを、アルブミン E L I S A によって培養培地において測定した。

【発明を実施するための形態】

【0011】

詳細な説明

本発明の局面は、ある特定のパーキンソン病患者に由来する肝細胞が、健康な個体とは異なり、従って、肝細胞機能不全が、パーキンソン病の発症および進行においてある役割を果たし得るという所見に関する。具体的には、パーキンソン病患者は、適切な機能を欠いておりかつ同定するマーカーの異常なレベルを発現する肝細胞を有する。例えば、パーキンソン病の肝細胞は、健康な個体に由来する肝細胞より低いレベルのアルブミンを発現し、成熟肝細胞と関連する他の遺伝子（例えば、トリプシン、肝細胞核因子4（HNF4））、およびアシアロ糖タンパク質レセプター（ASGR）は、健康なコントロールに由来する肝細胞よりパーキンソン病患者に由来する肝細胞において低下したレベルで発現される。

10

【0012】

I. パーキンソン病の診断に関する方法

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を診断するための方法に関する。いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を発生させるリスクを同定するための方法に関する。ある特定の実施形態において、上記方法は、被験体から採取した血液サンプル、被験体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞を提供する工程を包含し、ここで上記肝細胞は、上記被験体から採取した非肝細胞の細胞から生成され、次いで、上記肝細胞へと分化される。ある特定の実施形態において、上記方法は、上記血液サンプル、上記肝臓サンプル、もしくは上記肝細胞中の生体分子の量を測定する工程を包含する。上記方法は、例えば、上記生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、上記個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合、上記被験体を、パーキンソン病を有すると診断する工程を包含し、ここで上記肝細胞は、上記個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。上記方法は、上記生体分子の測定された量が、パーキンソン病と診断された個体から採取した血液サンプル、上記個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合、上記被験体を、パーキンソン病を発生させるリスクがあると同定する工程を包含し得、ここで上記肝細胞は、上記個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。

20

30

【0013】

上記方法は、例えば、上記生体分子の測定された量が、健康な個体から採取した血液サンプル、上記個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合、上記被験体を、パーキンソン病を有しないと診断する工程を包含し得、ここで上記肝細胞は、上記個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。上記方法は、上記生体分子の測定された量が、健康な個体から採取した血液サンプル、上記個体から採取した肝臓サンプル、もしくは肝細胞中に存在する量に匹敵する場合に、上記被験体を、パーキンソン病の発生に関して低リスクと同定する工程を包含し得、ここで上記肝細胞は、上記個体から採取した非肝細胞の細胞に由来し、次いで、上記肝細胞へと分化される。

40

【0014】

上記生体分子は、例えば、タンパク質もしくはRNAであり得る。

【0015】

ある特定の実施形態において、上記被験体は、ヒトである。上記被験体は、パーキンソン病の少なくとも1つの症状（例えば、振戦、寡動、固縮、姿勢反射障害、もしくは神経精神障害（例えば、認知症））を示し得る。上記被験体は、パーキンソン病と診断され得る。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病の症状を示さず、上記被験体は、パーキンソン病と診断されたことがない。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病を有する少なくとも1名の親類を有する。すなわち、上記親類

50

および上記被験体は、遺伝性の遺伝子型を共有する。例えば、上記被験体は、パーキンソン病を有するかまたは有した個体の子孫であり得る。上記被験体は、パーキンソン病と関連することが公知である変異（例えば、 α -シヌクレイン（S N C A）、パーキン（P R K N）、ロイシンリッチ反復キナーゼ2（L R R K 2）、P T E N誘導性推定キナーゼ1（P I N K 1）、D J - 1、グルコセレブロシダーゼ、もしくはA T P 1 3 A 2に対する変異）を有し得る。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病を有することが既知である親類を有しない。いくつかの実施形態において、上記被験体は、検出可能なレビー小体を有する。いくつかの実施形態において、上記被験体は、検出可能なレビー小体を実質的に含まない。

【0016】

いくつかの実施形態において、上記方法は、肝細胞を提供する工程を包含し、ここで上記肝細胞は、幹細胞、例えば、多能性幹細胞（人工多能性幹細胞など）から生成される。

【0017】

いくつかの実施形態において、上記方法は、肝細胞を提供する工程を包含し、ここで上記肝細胞は、上記被験体から採取した非肝細胞の細胞から生成され、次いで、上記肝細胞へと分化される。上記肝細胞を非肝細胞の細胞から生成する工程は、多能性幹細胞を上記細胞から生成する工程および上記多能性幹細胞を肝細胞へと分化させ、それによって、上記肝細胞を生成する工程を包含し得る。上記細胞は、例えば、末梢血単核細胞もしくは線維芽細胞であり得る。

【0018】

上記多能性幹細胞を上記細胞から生成する工程は、上記細胞を、K r u p p e l 様因子4（K l f 4）、オクタマー結合転写因子3 / 4（O c t - 3 / 4）、オクタマー結合転写因子4（O c t - 4）、S R Y（性決定領域Y）-ボックス2（S o x 2）、および / もしくはc - M y cの遺伝子で形質導入する工程を包含し得る。多能性幹細胞を生成する工程は、上記細胞を、O c t 3 / 4、O c t 4、K l f 4、K l f 1、K l f 2、K l f 5、S o x 2、S o x 1、S o x 3、S o x 1 5、S o x 1 7、S o x 1 8、c - M y c、L - M y c、N - M y c、T E R T、S V 4 0 ラージT抗原、H P V 1 6 E 6、H P V 1 6 E 7、B m i l 1、L i n 2 8、L i n 2 8 b、N a n o g、G l i s 1、E s r r b、および / もしくはE s r r gの遺伝子で形質導入する工程を包含し得る。上記細胞を形質導入する工程は、上記細胞を、少なくとも1種のベクターで形質導入する工程を包含し得、例えば、ここで上記少なくとも1種のベクターは、K l f 4、O c t - 3 / 4、O c t - 4、S o x 2、および / もしくはc - M y cの遺伝子を含む。上記ベクターは、例えば、プラスミドベクターもしくはウイルスベクター（例えば、センダイウイルスベクター）であり得る。上記細胞を形質導入する工程は、上記細胞を、少なくとも1種のセンダイウイルスベクターで形質導入する工程を包含し得、例えば、ここで上記少なくとも1種のセンダイウイルスベクターは、K l f 4、O c t - 3 / 4、O c t - 4、S o x 2、および / もしくはc - M y cの遺伝子を含む。多能性幹細胞を細胞から生成するための方法は、当該分野で周知であり、米国特許出願公開第2011 / 0223669号および同第2013 / 0065311号（これらの各々は、参考として援用される）に記載されるものを含む。核酸ではなく低分子を使用して、多能性幹細胞を体細胞から生成するための方法はまた、当該分野で公知である（例えば、P C T特許出願公開W O 2015 / 003643（参考として本明細書によって援用される）を参照のこと）。

【0019】

上記多能性幹細胞を上記肝細胞へと分化させる工程は、上記多能性幹細胞を内胚葉細胞へと、例えば、上記多能性幹細胞を内胚葉培地中でインキュベートすることによって、分化させる工程を包含し得る。上記多能性幹細胞を上記肝細胞へと分化させる工程は、上記多能性幹細胞もしくは内胚葉細胞を、骨形成タンパク質4（B M P - 4）および / もしくは線維芽細胞増殖因子2（F G F - 2）を含む培地（例えば、無血清培地）中でインキュベートする工程を包含し得る。上記多能性幹細胞を上記肝細胞へと分化させる工程は、上記多能性幹細胞もしくは内胚葉細胞を、ヒト増殖因子（H G F）を含む培地（例えば、無

10

20

30

40

50

血清培地) 中でインキュベートする工程を包含し得る。上記多能性幹細胞を上記肝細胞へと分化させる工程は、上記多能性幹細胞もしくは内胚葉細胞を、オンコスタチンを含む培地(例えば、無血清培地) 中でインキュベートする工程を包含し得る。多能性幹細胞を肝細胞へと分化させるための他の方法は、当該分野で周知である(例えば、米国特許出願公開第2012/0190059号(参考として本明細書によって援用される)を参照のこと)。

【0020】

上記血液サンプル、肝臓サンプル、もしくは非肝細胞の細胞は、上記被験体から、例えば、上記被験体の血液を抜くことによって、肝臓生検を行うことによって、もしくは別の手段(例えば、皮膚生検)によって、直接得られ得る。上記血液サンプル、肝臓サンプル、もしくは非肝細胞の細胞は、上記被験体から間接的に得られ得る。例えば、上記サンプルもしくは細胞は、上記被験体のヘルスケア提供者から、例えば、メールを介して得られ得る。上記サンプルもしくは細胞は、血液バンクもしくは組織バンクまたは他のアーカイブから得られ得る。

10

【0021】

上記生体分子は、アルブミンもしくはアルブミンをコードするRNAであり得る。上記生体分子は、アンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子4、またはアンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子4をコードするRNAであり得る。上記生体分子は、シトクロムP450IID6、シトクロムP450MP、シトクロムP450PA、システインジオキシゲナーゼ、またはシトクロムP450IID6、シトクロムP450MP、シトクロムP450PA、もしくはシステインジオキシゲナーゼをコードするRNAであり得る。

20

【0022】

いくつかの実施形態において、上記生体分子は、RNAであり、上記生体分子の量は、PCR、マイクロアレイ分析、もしくは配列決定によって測定される。

【0023】

いくつかの実施形態において、上記生体分子は、ペプチドもしくはタンパク質であり、上記生体分子の量は、フローサイトメトリー、磁性活性化セルソーティング、もしくは免疫アッセイ(例えば、ELISA)を使用して測定される。

30

【0024】

上記方法は、上記被験体(すなわち、パーキンソン病と診断されているかまたはパーキンソン病を発生させるリスクを示す被験体)に薬剤を投与して、パーキンソン病を防止するか、パーキンソン病の発症を遅らせるか、またはパーキンソン病を処置する工程をさらに包含し得る。上記方法は、上記被験体(すなわち、パーキンソン病と診断されているかまたはパーキンソン病を発生させるリスクを示す被験体)に薬剤を投与して、パーキンソン病を防止するか、その発症を遅らせるか、またはその1もしくはこれより多くの症状を処置する工程をさらに包含し得る。上記薬剤は、例えば、レボドパであり得る。

【0025】

II. パーキンソン病を処置するための治療剤を同定する方法

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を処置するための治療剤を同定するための方法に関する。上記方法は、第1の肝細胞と化合物もしくは組成物とを接触させる工程および上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量を測定する工程を包含し得る。上記方法は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量と、コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量とを比較する工程を包含し得る。上記方法は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量が、上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量とは異なる場合に、上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程を包含し得る。例えば、上記第1の肝細胞およびコントロール肝細胞は、パーキンソン病と一致する遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、そして化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量と上記コントロー

40

50

ル肝細胞によって生成される生体分子の量との間の差異を同定する工程を包含し得、ここで上記第1の肝細胞は、上記コントロール肝細胞より健康な肝細胞に類似である生体分子の量を生成する。従って、上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量における上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量から離れるシフトを同定する工程を包含し得、すなわち、ここで上記シフトは、健康な肝細胞が生成する上記生体分子の量の近くへのシフトである。

【0026】

同様に、上記第1の肝細胞は、パーキンソン病と一致する遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、そして上記コントロール肝細胞は、非パーキンソン遺伝子型および/もしくは表現型を有し得、そして化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量が、上記第1の肝細胞と上記化合物もしくは組成物とを接触させる工程の前に、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量より上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量に類似であることを同定する工程を包含し得る。従って、上記化合物もしくは組成物を、パーキンソン病を処置するための治療剤として同定する工程は、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量における上記コントロール肝細胞によって生成される生体分子の量へのシフトを同定する工程を包含し得、すなわち、ここで上記シフトは、上記第1の肝細胞と上記化合物もしくは組成物とを接触させる工程の前に、上記第1の肝細胞によって生成される生体分子の量から離れる。

10

20

【0027】

上記生体分子は、例えば、タンパク質もしくはRNAであり得る。

【0028】

上記第1の肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する細胞株、例えば、不死化細胞株に由来し得る。上記第1の肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する被験体から得られる細胞株に由来し得る。上記第1の肝細胞は、パーキンソン病を有する被験体から得られる細胞株に由来し得る。

【0029】

上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する細胞株、例えば、不死化細胞株に由来し得る。上記第1の肝細胞および上記コントロール肝細胞は、同じ細胞株に由来し得る。上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する被験体から得られる細胞株に由来し得る。上記第1の肝細胞および上記コントロール肝細胞は、同じ被験体に由来し得る。上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病を有する被験体から得られる細胞株に由来し得る。上記第1の肝細胞および上記コントロール肝細胞は、同じ細胞株に由来し得る。

30

【0030】

上記コントロール肝細胞は、健康な遺伝子型および/もしくは表現型を有する、例えば、パーキンソン病と関連しない細胞株、例えば、不死化細胞株に由来し得る。上記コントロール肝細胞は、健康な被験体、例えば、パーキンソン病と関連しない遺伝子型および/もしくは表現型を有する被験体から得られる細胞株に由来し得る。上記コントロール肝細胞は、健康な被験体、例えば、パーキンソン病を有しない被験体から得られる細胞株に由来し得る。

40

【0031】

上記第1の肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する被験体から由来する肝細胞であり得る。上記第1の肝細胞は、パーキンソン病を有する被験体から由来する肝細胞であり得る。

【0032】

上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病と関連する遺伝子型および/もしくは表現型を有する被験体から由来する肝細胞であり得る。上記コントロール肝細胞は、パーキンソ

50

ン病を有する被験体に由来する肝細胞であり得る。上記第 1 の肝細胞および上記コントロール肝細胞は、同じ被験体に由来し得る。

【 0 0 3 3 】

上記コントロール肝細胞は、健康な被験体、例えば、パーキンソン病と関連しない遺伝子型および／もしくは表現型を有する被験体に由来する肝細胞であり得る。上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病を有しない被験体に由来する肝細胞であり得る。

【 0 0 3 4 】

上記第 1 の肝細胞および／もしくはコントロール肝細胞は、多能性幹細胞、例えば、パーキンソン病と関連する遺伝子型および／もしくは表現型を有する被験体に由来する多能性幹細胞に由来し得る。例えば、上記第 1 の肝細胞は、パーキンソン病を有する被験体に由来する多能性幹細胞に由来し得る。上記多能性幹細胞は、被験体（例えば、パーキンソン病を有する被験体）から得られる多能性幹細胞であり得るか、または上記多能性幹細胞は、被験体（例えば、パーキンソン病を有する被験体）からえられる分化した細胞（例えば、末梢血単核細胞もしくは線維芽細胞）から生成され得る。上記コントロール肝細胞は、パーキンソン病を有する被験体に由来するか、もしくは健康な被験体に由来するかのいずれかの多能性幹細胞に由来し得る。多能性幹細胞は、任意の方法（本明細書で開示される任意の方法を含む）によって生成され得る。肝細胞は、任意の方法（本明細書で開示される任意の方法を含む）によって生成され得る。

10

【 0 0 3 5 】

ある特定の実施形態において、上記第 1 の肝細胞は、ヒト肝細胞であり、すなわち、上記第 1 の肝細胞は、ヒトゲノムを含む。ある特定の実施形態において、上記コントロール肝細胞は、ヒト肝細胞である。すなわち、上記コントロール肝細胞は、ヒトゲノムを含む。ある特定の実施形態において、上記第 1 の肝細胞および上記コントロール肝細胞は、同じ種のゲノムを含む（例えば、各ゲノムは、ヒトゲノムである）。

20

【 0 0 3 6 】

上記化合物は、低分子もしくは生物製剤であり得る。例えば、上記化合物は、低分子であり得、上記低分子は、約 2 0 0 a m u ~ 約 5 0 0 0 a m u（例えば、約 3 0 0 a m u ~ 約 2 0 0 0 a m u、もしくは約 4 0 0 a m u ~ 約 1 0 0 0 a m u）の分子量を有し得る。上記化合物は、生物製剤であり得、上記生物製剤は、約 1 0 0 0 a m u ~ 約 5 0 0 , 0 0 0 a m u（例えば、約 5 0 0 0 a m u ~ 約 2 0 0 , 0 0 0 a m u、例えば、約 5 , 0 0 0 a m u ~ 約 1 0 , 0 0 0 a m u、約 1 0 , 0 0 0 a m u ~ 約 2 5 , 0 0 0 a m u、約 2 5 , 0 0 0 a m u ~ 約 7 5 , 0 0 0 a m u、約 7 5 , 0 0 0 a m u ~ 約 1 2 5 , 0 0 0 a m u、もしくは約 1 2 5 , 0 0 0 a m u ~ 約 1 7 5 , 0 0 0 a m u）の分子量を有し得る。いくつかの実施形態において、上記化合物は、生物製剤であり、上記生物製剤は、核酸（例えば、RNA もしくは DNA）、またはタンパク質（例えば、ペプチドもしくはポリペプチド）である。いくつかの実施形態において、上記化合物は、抗体もしくは抗体のフラグメント（すなわち、タンパク質）である。いくつかの実施形態において、上記化合物は、抗体もしくは抗体のフラグメント（すなわち、タンパク質）を含む。上記化合物は、例えば、単一ドメイン抗体もしくは抗体の F a b フラグメントであり得る。上記化合物は、低分子干渉 RNA であり得る。上記化合物は、例えば、C R I S P R / C a s およびガイド RNA をコードするプラスミドであり得る。上記化合物は、ジンクフィンガーヌクレアーゼもしくはジンクフィンガーヌクレアーゼをコードする核酸であり得る。上記化合物は、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（T A L E N）、もしくは T A L E N をコードする核酸であり得る。上記化合物は、アルブミンをコードする核酸であり得る。

30

40

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態において、上記肝細胞は、組成物と接触させられる。上記組成物は、本明細書で記載されるとおりの化合物（例えば、生物製剤）を含み得る。上記組成物は、遺伝子の C R I S P R 媒介性編集のための混合物を含み得る。同様に、上記組成物は、ジンクフィンガーヌクレアーゼ媒介性もしくは T A L E N 媒介性の遺伝子編集のための混合物を含み得る。上記組成物は、遺伝子治療ベクター（例えば、ウイルスベクター）を含

50

み得る。

【0038】

III. パーキンソン病を処置することに関する方法

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を防止もしくは処置するための方法に関し、上記方法は、治療上有効な複数の肝細胞を、その必要性のある被験体に投与する工程を包含する。

【0039】

上記複数の肝細胞は、パーキンソン病と関連するゲノムを有する肝細胞（すなわち、上記被験体のゲノムを含む肝細胞）を含み得る。例えば、ここで肝細胞は、同じゲノムを有する改変されていない肝細胞より、健康な表現型に類似である表現型を示すように改変されている。

10

【0040】

上記複数の肝細胞は、パーキンソン表現型を含まない肝細胞を含み得る。いくつかの実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの各々の肝細胞は、健康な表現型を含む。いくつかの実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞のいずれも、パーキンソン表現型を含まない。

【0041】

いくつかの実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、パーキンソン病表現型を有する肝細胞より多くアルブミンを生成する。

【0042】

いくつかの実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、パーキンソン病表現型を有する肝細胞より多くのアンチトリプシン、アシアロ糖タンパク質レセプター、もしくは肝細胞核因子4を生成する。いくつかの実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、パーキンソン病表現型を有する肝細胞より多くのシトクロムP450IID6、シトクロムP450MP、シトクロムP450PA、もしくはシステインジオキシゲナーゼを生成する。

20

【0043】

ある特定の実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、上記被験体から採取した細胞、好ましくは体細胞（例えば、二倍体細胞）に由来する。

【0044】

いくつかの実施形態において、上記肝細胞のゲノムは、例えば、CRISPR/Cas、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、もしくは転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼによって編集されている。例えば、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、上記被験体（すなわち、パーキンソン病と関連する遺伝子型を有する被験体）から採取した細胞に由来し得、上記肝細胞のゲノムは、上記肝細胞が、パーキンソン病の肝細胞より、健康な肝細胞により類似の表現型を示すように、編集され得る。

30

【0045】

いくつかの実施形態において、上記肝細胞は、上記被験体から採取した細胞に由来する。上記肝細胞は、多能性幹細胞、例えば、上記被験体から採取した多能性幹細胞に由来し得る。上記肝細胞は、多能性幹細胞に由来し得、上記多能性幹細胞は、上記被験体から採取した1もしくはこれより多くの分化した細胞（例えば、血液単核細胞もしくは線維芽細胞）に由来し得る。いくつかの実施形態において、上記肝細胞は、上記被験体から採取した細胞に由来しない。

40

【0046】

ある特定の実施形態において、上記複数の肝細胞のうちの肝細胞は、上記被験体から採取した細胞に由来しない。上記肝細胞は、例えば、同種異系ドナーから採取した細胞に由来し得る。

【0047】

いくつかの実施形態において、上記肝細胞は、上記被験体の肝臓への挿入によって投与される。例えば、上記肝細胞は、上記被験体の肝門脈へと挿入され得る。上記細胞を挿入

50

する工程は、上記細胞を移植する（例えば、上記細胞を外科的に移植することによる）工程を包含し得る。上記細胞を挿入する工程は、上記細胞を注射する（例えば、肝臓もしくは肝門脈へと上記細胞を注射することによる）工程を包含し得る。

【0048】

いくつかの局面において、本発明は、パーキンソン病を防止もしくは処置するための方法に関し、上記方法は、治療上有効な複数の細胞をその必要性のある被験体に投与する工程を包含し、ここで上記細胞は、肝細胞であるか、または上記細胞は、肝細胞へと分化し得る。上記方法は、肝細胞を被験体へと投与するために、本明細書に記載される方法のうちのいずれか1つを包含し得、例えば、上記細胞が完全に分化した肝細胞ではないという点でのみ異なる。にもかかわらず、上記細胞は、例えば、上記細胞を被験体へと投与した後に、肝細胞へと分化することが可能であり得る。従って、上記方法は、治療上有効な複数の幹細胞を被験体へと投与する工程を包含し得る。上記幹細胞は、例えば、少なくとも1種の肝細胞前駆細胞マーカーもしくは少なくとも1種の成熟肝細胞マーカーを発現し得る。いくつかの実施形態において、上記幹細胞は、例えば、多能性幹細胞であり、そして上記幹細胞は、肝細胞前駆細胞マーカーもしくは成熟肝細胞マーカーを発現しない。

10

【0049】

ある特定の実施形態において、上記被験体は、哺乳動物（例えば、マウスもしくは霊長類）である。上記被験体は、マウスであり得る。いくつかの実施形態において、上記被験体は、ヒトである。

【0050】

上記被験体は、パーキンソン病の少なくとも1つの症状（例えば、振戦、寡動、固縮、姿勢反射障害、もしくは認知症のような神経精神障害）を示し得る。上記被験体は、パーキンソン病と診断され得る。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病の症状を示さず、上記被験体は、パーキンソン病と診断されることがない。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病を有する少なくとも1名の親類を有する。すなわち、ここで上記親類および上記被験体は、遺伝性の遺伝子型を共有する。例えば、上記被験体は、パーキンソン病を有するもしくは有した人間の子孫であり得る。上記被験体は、パーキンソン病と関連することが公知の変異（例えば、 α -シヌクレイン（SNCA）、パーキン（PRKN）、ロイシンリッチ反復キナーゼ2（LRRK2）、PTEN誘導性推定キナーゼ1（PINK1）、DJ-1、グルコセレブロシダーゼ、もしくはATP13A2に対する変異）を有し得る。いくつかの実施形態において、上記被験体は、パーキンソン病を有することが既知の親類を有しない。いくつかの実施形態において、上記被験体は、検出可能なレビー小体を有する。いくつかの実施形態において、上記被験体は、検出可能なレビー小体を実質的に含まない。

20

30

【0051】

IV. 多能性幹細胞を生成する方法

人工多能性幹細胞（iPS細胞）は、体細胞に由来する人工幹細胞であり、これは、胚性幹細胞（ES細胞）のものとほぼ同じ特性（例えば、分化多能性および自己再生による増殖の能力）を有する。iPS細胞は、ある特定の核再プログラミング物質を、核酸もしくはタンパク質の形態で体細胞へと移入することによって調製され得る（例えば、K. Takahashi and S. Yamanaka (2006) Cell, 126: 663-676; K. Takahashiら (2007) Cell, 131: 861-872; J. Yuら (2007) Science, 318: 1917-1920; M. Nakagawara (2008) Nat. Biotechnol., 26: 101-106; PCT特許出願公開番号WO2007/069666; WO2011/074690、および米国特許出願公開第2011/0223669号および同第2013/0065311号（これらの各々は、参考として本明細書によって援用される）を参照のこと）。上記核再プログラミング物質は、ES細胞において特異的に発現される任意の遺伝子、またはES細胞の未分化状態の維持において鍵となる役割を果たす遺伝子、またはこれらの遺伝子生成物であり得る。例としては

40

50

、Oct3/4、Klf4、Klf1、Klf2、Klf5、Sox2、Sox1、Sox3、Sox15、Sox17、Sox18、c-Myc、L-Myc、N-Myc、TERT、SV40ラージT抗原、HPV16 E6、HPV16 E7、Bmi1、Lin28、Lin28b、Nanog、EsrrbおよびEsrrgが挙げられる。これらの再プログラミング物質は、iPS細胞を樹立する場合に組み合わせて使用され得る。例えば、これらの再プログラミング物質のうちの少なくとも1種、2種もしくは3種を含む組み合わせが使用され得る。好ましいのは、4種を含む組み合わせが与えられることである。

【0052】

これらの核再プログラミング物質は、例えば、リポフェクション、細胞膜透過性ペプチドへの結合、およびマイクロインジェクションによってタンパク質の形態で体細胞へと移入され得るか、または例えば、ベクター（例えば、ウイルス、プラスミドおよび人工染色体）、ならびにリポフェクション、リポソーム、およびマイクロインジェクションによって、DNAの形態で体細胞へと移入され得る。ウイルスベクターの例としては、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター（Cell 126:663-676 (2006)；Cell 131:861-872 (2007)；Science 318:1917-1920 (2007)（これらの各々は、参考として本明細書によって援用される））、アデノウイルスベクター（Science 322:945-949 (2008)（参考として本明細書によって援用される））、アデノ随伴ウイルスベクター、センダイウイルスベクター（Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci. 85:348-62 (2009)（参考として本明細書によって援用される））などが挙げられる。人工染色体ベクターとしては、例えば、ヒト人工染色体（HAC）、酵母人工染色体（YAC）、細菌人工染色体（BAC、PAC）などが挙げられる。哺乳動物細胞のためのプラスミドが使用され得る（Science 322:949-953 (2008)（参考として本明細書によって援用される））。上記ベクターは、核再プログラミング物質が発現されるようにするために、調節配列（例えば、プロモーター、エンハンサー、リポソーム結合配列、ターミネーター、もしくはポリアデニル化部位）を含み得、必要な場合には、薬物耐性遺伝子（例えば、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、ピューロマイシン耐性遺伝子など）、選択マーカー配列（例えば、チミジンキナーゼ遺伝子もしくはジフテリア毒素遺伝子）、レポーター遺伝子配列（例えば、緑色蛍光タンパク質（GFP）、βグルクロニダーゼ（GUS）もしくはFLAGの遺伝子）などをさらに含み得る。上記ベクターは、体細胞へと移入された後に、その切除を可能にするために、核再プログラミング物質をコードする遺伝子の、またはプロモーターおよびこれに接続された遺伝子の両末端に配置されたloxP配列を有し得る。上記ベクターはまた、ベクターが複製され、染色体の中に組み込まれなくても、エピソームとして起こることを可能にするために、EBNA-1およびoriP配列またはラージTおよびSV40ori配列を含み得る。

【0053】

他の因子は、上記の因子に加えて、核再プログラミングにおいてiPS細胞誘導効率を増大させるために使用され得る。例えば、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）インヒビター（例えば、バルプロ酸（VPA）（Nat. Biotechnol., 26(7):795-797 (2008)（参考として本明細書によって援用される）））、低分子インヒビター（例えば、トリコスタチンA、酪酸ナトリウム、MC 1293、およびM344、核酸ベースの発現インヒビター（例えば、HDACに対するsiRNAおよびshRNA（例えば、HDAC1 siRNA Smartpool（登録商標）（Millipore）、HDAC1に対するHuSH 29mer shRNA構築物（OriGene）など）、DNAメチルトランスフェラーゼインヒビター（例えば、5'-アザシチジン）（Nat. Biotechnol., 26(7):795-797 (2008)（参考として本明細書によって援用される））、G9aヒストンメチルトランスフェラーゼインヒビター（例えば、低分子インヒビター（例えば、BIX-0129

10

20

30

40

50

4 (Cell Stem Cell, 2:525-528 (2008) (参考として本明細書によって援用される))、核酸ベースの発現インヒビター (例えば、G9a に対する siRNA および shRNA (例えば、G9a siRNA (ヒト) (Santa Cruz Biotechnology)) など)、L 型カルシウムチャネルアゴニスト (例えば、Bayk8644) (Cell Stem Cell, 3:568-574 (2008) (参考として本明細書によって援用される))、p53 インヒビター {例えば、p53 に対する siRNA および shRNA (Cell Stem Cell, 3, 475-479 (2008) (参考として本明細書によって援用される))}、Wnt シグナル伝達 (例えば、可溶性 Wnt3a) (Cell Stem Cell, 3, 132-135 (2008) (参考として本明細書によって援用される))、サイトカイン (例えば、LIF、bFGF など)、ALK5 インヒビター (例えば、SB431542) (Nat Methods, 6:805-8 (2009) (参考として本明細書によって援用される))、マイトジェン活性化プロテインキナーゼシグナル伝達インヒビター、グリコゲンシンターゼキナーゼ-3 インヒビター (PLoS Biology, 6(10), 2237-2247 (2008) (参考として本明細書によって援用される))、miRNA (例えば、miR-291-3p、miR-294、および miR-295 (R. L. Judson ら, Nat. Biotech., 27:459-461 (2009) (参考として本明細書によって援用される))) などが、使用され得る。

10

20

【0054】

iPS 細胞誘導のための培養培地の例としては、以下が挙げられる：(1) 10~15% FBS を含む、DMEM、DMEM/F12 もしくは DME 培地 (これらの培地は、LIF、ペニシリン/ストレプトマイシン、プーロマイシン、L-グルタミン、非必須アミノ酸、β-メルカプトエタノールなどをさらに含み得る)、(2) bFGF もしくは SCF を含む ES 細胞培養培地、例えば、マウス ES 細胞培養培地 (例えば、TX-WE S 培地、Thromb-X NV) または霊長類 ES 細胞培養培地 (例えば、霊長類 (ヒト およびサル) ES 細胞培養培地 (ReproCELL, Kyoto, Japan) など。

【0055】

培養法において、例えば、体細胞および核再プログラミング物質 (DNA、もしくはタンパク質) は、10% FBS を含む DMEM もしくは DMEM/F12 培地上で互いと接触させられ得、37 °C において、5% CO₂ の存在下で約 4~約 7 日間培養され得、その後、上記細胞は、上記体細胞および上記核再プログラミング物質の接触の約 10 日後に開始して、フィーダー細胞 (例えば、マイトマイシン C で予め処理された、STO 細胞、SNL 細胞および他の細胞) 上に再播種され得、bFGF 含有霊長類 ES 細胞培養培地を使用して再び培養され得、それによって、iPS 様コロニーが、接触の約 30~約 45 日後もしくはこれより後に生成され得る。iPS 細胞誘導の効率を増大させるために、体細胞は、5~10% の低酸素濃度を含む条件下で培養され得る。

30

【0056】

あるいは、上記細胞は、フィーダー細胞 (例えば、マイトマイシン C で予め処理された、STO 細胞、SNL 細胞および他の細胞) 上で、10% FBS を含む DMEM 培地 (これは、LIF、ペニシリン/ストレプトマイシン、プーロマイシン、L-グルタミン、非必須アミノ酸、β-メルカプトエタノールなどをさらに含み得る) を使用して培養され得、それによって、ES 様コロニーは、約 25~約 30 日後もしくはこれより後に生成され得る。

40

【0057】

培養期間の間に、上記培地は、培養の 2 日目に開始して、毎日 1 回、新鮮な同じ培地を供給することによって、交換され得る。核再プログラミングに使用される体細胞の数は、制限を受けないが、その数は、培養ディッシュ 100 cm² あたり約 5 × 10³ ~ 約 5 × 10⁶ 細胞の範囲に入り得る。

50

【0058】

薬物耐性遺伝子がマーカー遺伝子として使用される場合、このマーカー遺伝子を発現する細胞は、その相当する薬物を含む培地（選択培地）を使用する培養によって選択され得る。上記マーカー遺伝子を発現する細胞は、マーカー遺伝子としての蛍光タンパク質遺伝子を、蛍光顕微鏡を使用して観察することによって、マーカー遺伝子としての発光酵素遺伝子に関する発光基質を添加することによって、およびマーカー遺伝子としての発色酵素遺伝子に関する発色基質を添加することによって、検出され得る。

【0059】

哺乳動物起源（例えば、ヒト、マウス、サル、ブタ、ラットなど）の生殖細胞以外の任意の細胞が、本発明の「細胞」として使用され得る。例としては、以下が挙げられる：角化上皮細胞（keratinizing epithelial cell）（例えば、角化表皮細胞（keratinized epidermal cell））、粘膜上皮細胞（例えば、舌の表面層の上皮細胞）、外分泌腺上皮細胞（例えば、乳腺細胞）、ホルモン分泌細胞（例えば、副腎髄質細胞）、代謝もしくは貯蔵のための細胞（例えば、肝臓細胞）、界面を構成する内膜上皮細胞（intestinal epithelial cell）（例えば、タイプI肺胞細胞）、閉鎖管の内膜上皮細胞（例えば、血管内皮細胞）、輸送能を有する線毛を有する細胞（例えば、気道上皮細胞）、細胞外マトリクス分泌のための細胞（例えば、線維芽細胞）、収縮細胞（contractile cell）（例えば、平滑筋細胞）、血液および免疫系の細胞（例えば、Tリンパ球）、感覚関連細胞（例えば、桿体細胞）、自律ニューロン（例えば、コリン作動性ニューロン）、感覚器官および末梢ニューロンの支持細胞（例えば、サテライト細胞）、中枢神経系のニューロンおよびグリア細胞（例えば、星状グリア細胞）、色素細胞（例えば、網膜色素上皮細胞）、これらの前駆細胞（組織前駆細胞）など。細胞分化の程度、細胞が収集される動物の年齢など；さらには分化していない前駆細胞（体性幹細胞を含む）に関する制限はなく、最終的に分化した成熟細胞は、本発明における細胞の供給源として同様に使用され得る。

【0060】

本発明において、体細胞が収集される哺乳動物個体の選択は、特に限定されないが、それは好ましくは、ヒトである。本発明の種々の実施形態において、体細胞は、パーキンソン病を有する患者またはこの疾患と関連する遺伝的多型を有する健康な個体から集められることが、望ましい。

【0061】

V．幹細胞を肝細胞へと分化させるための方法

幹細胞を肝細胞へと分化させるための方法は、当該分野で周知である（例えば、PCT特許出願公開番号WO 2012/105505（参考として本明細書によって援用される）を参照のこと）。肝細胞もしくは肝幹細胞は、iPS細胞から分化され得る。例えば、酪酸ナトリウムの存在下でiPS細胞を培養する工程は、肝細胞を生成し得る（例えば、Rambhatlaら（2003）Cell Transplant 12:1-11（参考として本明細書によって援用される）を参照のこと）。別の例では、肝細胞は、アクチビンAの存在下で、無血清培地中でiPS細胞を培養し、続いて、上記細胞を線維芽細胞増殖因子-4および骨形成タンパク質-2中で培養することによって生成され得る（例えば、Caiら（2007）Hepatology 45(5):1229-39（参考として本明細書によって援用される））。別の例示的实施形態において、iPS細胞は、iPS細胞をアクチビンAの存在下で約2～約6日間、例えば、約2日間、約3日間、約4日間、約5日間、もしくは約6日間培養し、次いで、iPSCを肝細胞増殖因子（HGF）の存在下で約5日間～約10日間、例えば、約5日間、約6日間、約7日間、約8日間、約9日間、もしくは約10日間培養することによって、肝細胞もしくは肝幹細胞へと分化される。

【実施例】

【0062】

例示

10

20

30

40

50

実施例 1 . 末梢血単核細胞の採取

12 mL LeucoSepTM チューブに、3 mL LeucoSepTM 分離培地 (Greiner Bio One) を満たした。そのチューブを、30 秒間、1000 rcf で、室温において遠心分離して、そのチューブの中の分離培地を多孔性バリアの下に配置した。

【0063】

4 mL のリン酸緩衝食塩水 (PBS ; カルシウムおよびマグネシウムを含まない) を、15 mL コニカルチューブに添加した。4 mL バキュエイナー中のヒト血液を、10 回転倒混和して、血液を混合した。次いで、その血液を、上記 PBS を含むコニカルチューブに添加し、その血液および PBS を混合した。次いで、その血液および PBS 混合物を、LeucoSepTM チューブの中に注いだ。

10

【0064】

その LeucoSepTM チューブを、Labnet Centrifuge で室温において 30 分間、1250 rcf で (または Beckman スイングバケット遠心分離機で 2100 rpm において) 遠心分離した。その富化された細胞画分 (リンパ球および末梢血単核細胞を含む) を、多孔性バリアの上の血漿上清および富化された細胞画分の両方を新しい 15 mL 遠心分離チューブに注ぐことによって集めた。その細胞を、500 rcf で 10 分間、Labnet 遠心分離機で (または 1100 rpm において 10 分間、Beckman 遠心分離機で) ペレットにし、その上清を廃棄した。

20

【0065】

上記ペレットを、1 mL の凍結用培地 (熱不活性化牛胎仔血清中 10 % DMSO) の中で再懸濁した。その 1 mL サンプルを、2 つの 0.5 mL アリコートに分け、-80 冷凍庫中で凍結した。各 0.5 mL のアリコートは、およそ 1,000,000 個の末梢血単核細胞を含んでいた。

【0066】**実施例 2 . 末梢血単核細胞の形質導入**

末梢血単核細胞の 0.5 mL のアリコートを、15 mL コニカルバイアル中に入れた 0.5 mL の拡大培地で洗浄した。上記細胞を、250 rcf において 7 分間ペレットにし、およそ 100 μ L の培地をチューブの中に残して、その上清を廃棄した。

【0067】

0.4 mL StemPro-34 Lance Media ; 5 μ L hKOS ; 5 μ L hc-Myc ; 3 μ L h-Klf4 ; 2 μ L 水中ポリブレン (1 mg / mL 希釈物) ; およびポリブレン試薬 (10 mg / mL) を含む形質導入培地を調製した。

30

【0068】

凍結した CytoTune ウイルスバイアルを、37 のバスの中に 8 秒間入れ、試薬を融解させ、次いで、4 の冷ブロックに置いた。そのウイルスを、PBMC 拡大培地へと混合した。

【0069】

次いで、その形質導入培地を、15 mL コニカルバイアルの中に入れて、その細胞ペレットを再懸濁した。上記形質導入培地および細胞を、24 ウェルプレートの中の 1 ウェルに入れ、37 において、5 % CO₂ 加湿雰囲気中で一晚インキュベートした。

40

【0070】**実施例 3 . 形質導入した細胞の培養**

1 mL の GelTrex のすぐに使える (ready-to-use) 溶液を、6 ウェルプレートの各ウェルに添加した。そのプレートを、37 および 5 % CO₂ において 1 時間インキュベートした。

【0071】

MEF 培地中の約 8500 個の細胞の凍結したバイアルを、37 の浴で 4 分間解凍し、その細胞溶液を、15 mL コニカルチューブへと移した。8 mL の予め加温したマウス胚性線維芽細胞 (MEF) 培地を、15 mL チューブに添加し、0.5 mL の MEF 培

50

地を使用して、空のバイアルを15 mL チューブの中にすすぎ入れた。その細胞懸濁物を、250 r c fにおいて8分間遠心分離し、その上清を廃棄し、細胞を2 mLのMEF培地中で再懸濁した。

【0072】

上記Gel trexを、6ウェルプレートのウェルから除去し、MEF培地中の上記細胞を、6ウェルプレートへと移した。上記細胞を、37 °Cにおいて5% CO₂の加湿雰囲気中で1日間培養した。

【0073】

次いで、上記細胞を、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含むStemPro-34培地中で3日間、37 °Cにおいて5% CO₂の加湿雰囲気中で培養した。次いで、上記細胞を、ペニシリンおよびストレプトマイシンを含むiPSC培地中で、14日間、37 °Cにおいて5% CO₂の加湿雰囲気中で培養した。

10

【0074】

実施例4．多能性幹細胞の、肝細胞への分化

I PS細胞株1098が、20~40% コンフルエントになったときに、上記細胞を、Verseneを使用して採取した。胚体内胚葉培地Aを、上記細胞に添加し、上記細胞を、1日間インキュベートした。次いで、胚体内胚葉培地Bを、上記細胞に添加し、上記細胞をさらに1日間インキュベートした。次いで、上記細胞を、BMP-4およびFGF-2を含むRPMI+B27培地中で5日間インキュベートした。次いで、上記細胞を、肝細胞増殖因子を含むRPMI+B27培地とともに5日間インキュベートした。次いで、上記細胞を、オンコスタチンを含む肝細胞培養培地とともに5日間インキュベートした。細胞および細胞培養上清を、分析のために集めた。次いで、上記細胞を、オンコスタチンを含む肝細胞培養培地とともに10日間インキュベートし、細胞および細胞培養上清を、分析のために集めた。

20

【0075】

実施例5．肝細胞生体マーカーの分析

パーキンソン病患者(611)および健康なコントロール(1098)に由来する肝細胞を、実施例1~4に記載されるとおりに調製した。細胞サンプルを、mRNAのqPCR分析のために調製した(図1)。パーキンソン病患者(611)に由来する肝細胞は、健康なコントロール(1098)に由来する肝細胞より少ないアンチトリプシン、アジアロ糖タンパク質レセプター、および肝細胞核因子4のmRNAを発現した。パーキンソン病患者(611)に由来する肝細胞は、健康なコントロール(1098)に由来する肝細胞より多くのKruppel様因子4 mRNAを発現した。細胞培養上清を、ELISAを使用してアルブミンに関してアッセイした(図2)。上記パーキンソン病患者(611)に由来する肝細胞の細胞培養上清は、健康なコントロール(1098)に由来する肝細胞の細胞培養上清より少ないアルブミンを含んだ。

30

【0076】

参考による援用

本明細書で引用される特許、公開された特許出願、および非特許参考文献の各々は、それらの全体において参考として援用される。

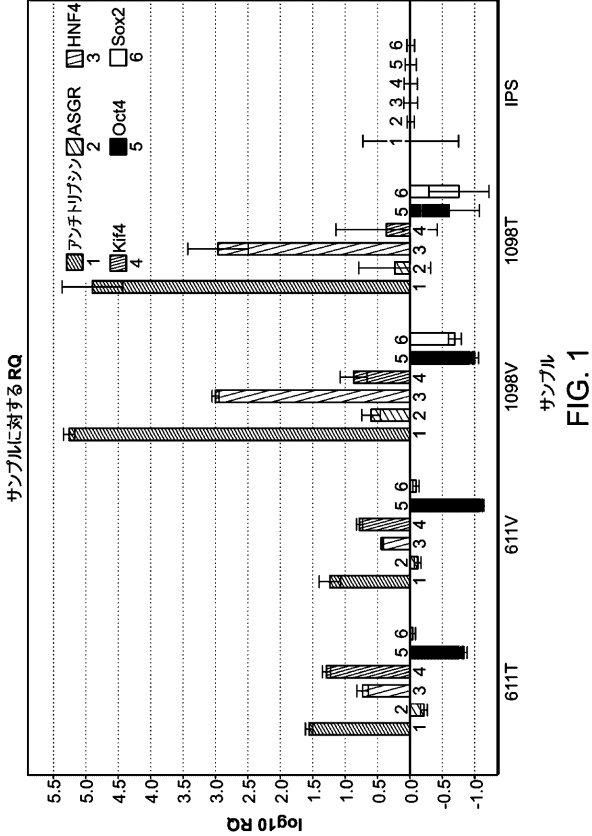
40

【0077】

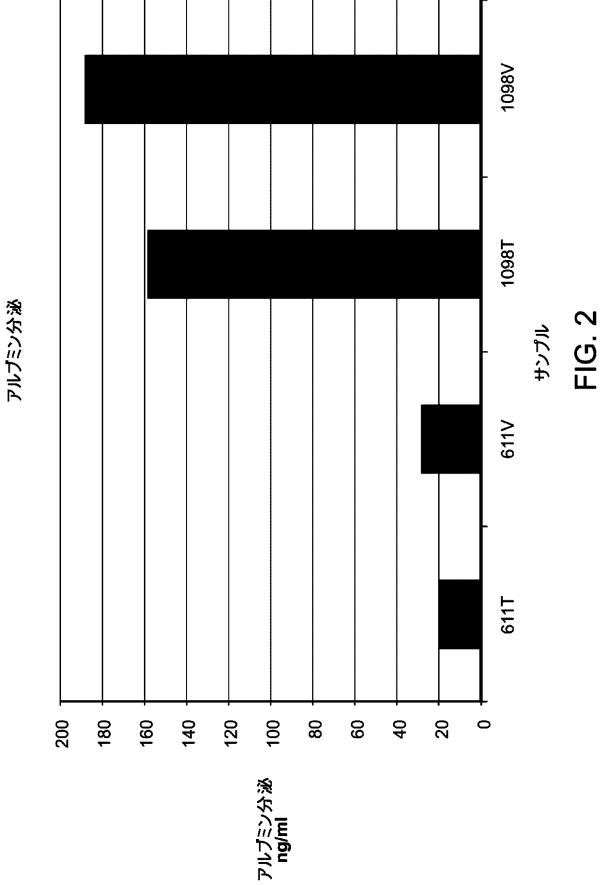
均等物

当業者は、慣用的実験法のみを使用して、本明細書に記載される発明の具体的実施形態に対する多くの均等物を認識するかまたは確認し得る。このような均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

【図 1】



【図 2】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/55411

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 35/407, 35/545; C12N 5/071, 5/074 (2016.01) CPC - A61K 35/407, 35/545; C12N 5/0807 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) IPC(8): A61K 35/12, 35/407, 35/545; C12N 5/07, 5/071, 5/074; C12Q 1/68 (2016.01) CPC: A61K 35/12, 35/407, 35/545; C12N 5/0607, 2506/03; C12Q 1/68 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) PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); EBSCO Discovery; PubMed; Google Scholar; KEYWORDS: diagnose, risk, parkinson's, hepatocytes, blood, sample, protein, ma		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2014/0302068 A1 (KHOO, S et al.) October 9, 2014; paragraphs [0008], [0012], [0013], [0033], [0068], [0122], [0123]; claim 29	1-2, 8/1-2 — 3/1-2, 4/3/1-2, 5/3/1-2, 6/3/1-2, 9/1-2, 16-17, 18/16-17, 19/16-17, 20/19/16-17
X — Y	WO 1995/027512 A2 (BAYLOR COLLEGE OF MEDICINE) October 19, 1995; page 57, lines 12-24; claims 20-21	25-26 — 27/25-26
Y	US 2010/0129440 A1 (ZHAO, Y et al.) May 27, 2010; abstract; paragraphs [0009], [0011], [0085]	4/3/1-2
Y	US 2014/0087418 A1 (GENENTECH, INC.) March 27, 2014; paragraphs [0128], [0236]	3/1-2, 4/3/1-2, 5/3/1-2, 6/3/1-2, 16-17, 18/16-17, 19/16-17, 20/19/16-17/25-26
Y	US 2011/0097378 A1 (BADYLAK, SF) April 28, 2011; paragraph [0039]	9/1-2
Y	WO 2014/085830 A2 (THE PARKINSON'S INSTITUTE, et al.) June 5, 2014; paragraph [0026]	20/19/16-17
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 December 2016 (30.12.2016)		Date of mailing of the international search report 03 FEB 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/55411

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. 7, 10-15, 21-24, 28-39
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:

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 additional fees, 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.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 L 27/36 (2006.01)	A 6 1 L 27/36 1 0 0	4 C 0 8 7
A 6 1 L 27/38 (2006.01)	A 6 1 L 27/38 1 0 0	
A 6 1 L 27/40 (2006.01)	A 6 1 L 27/38 3 0 0	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 L 27/40	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/50 P	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/50 Z	
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/15 Z	
C 1 2 N 5/071 (2010.01)	G 0 1 N 33/53 D	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N 33/543 5 9 7	
A 6 1 K 38/38 (2006.01)	G 0 1 N 33/543 5 4 1 A	
A 6 1 K 38/55 (2006.01)	C 1 2 N 5/071	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	C 1 2 N 15/09 1 1 0	
	A 6 1 K 38/38	
	A 6 1 K 38/55	
	A 6 1 K 38/16	

(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,DJ,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,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 グリックスマン, マーシィ エー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 2 7, ボストン, イースト 5 ティーエイチ ストリート 7 5 7

(72)発明者 ザイディ, ニカット エフ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 9, ニュートン, ウォルター ストリート 4 4

(72)発明者 スミス, ロビン ワイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 1 4, ボストン, セントリー ヒル プレイス 6

F ターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 CB01 DA14 DA36 FB02 FB03
 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ42 QQ52 QR08 QR42 QR62 QS25 QS34
 QX01 QX02
 4B065 AA93X AA93Y AB01 BA02 CA44 CA46
 4C081 AB11 CD34 DA16 DB08 DC15
 4C084 AA02 BA44 CA33 DA36 DC34 DC50 MA67 NA14 ZA151 ZB211
 4C087 AA01 AA02 AA03 BB52 CA04 MA67 NA14 ZA15 ZB21

专利名称(译)	基于肝功能不全的鉴别和缓解的帕金森病的诊断和治疗		
公开(公告)号	JP2018537118A	公开(公告)日	2018-12-20
申请号	JP2018536711	申请日	2016-10-05
[标]发明人	グリックスマンマーシィエー ザイディニカットエフ スミスロビンワイ		
发明人	グリックスマン, マーシィ エー. ザイディ, ニカット エフ. スミス, ロビン ワイ.		
IPC分类号	C12Q1/6851 G01N33/68 C12Q1/6837 C12Q1/6869 A61K35/407 A61L27/36 A61L27/38 A61L27/40 A61P25/16 A61P43/00 G01N33/50 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/543 C12N5/071 C12N15/09 A61K38/38 A61K38/55 A61K38/16		
CPC分类号	A61K35/407 A61P25/16 C12N5/067 C12N2501/12 C12N2506/115 C12N2510/00 C12Q1/6883 C12Q2600/158 G01N33/6893 G01N2333/4703 G01N2333/77 G01N2333/90241 A61K9/0019 A61K35/15 A61K35/33 G01N33/5038 G01N2800/2835 G01N2800/52		
FI分类号	C12Q1/6851.Z G01N33/68 C12Q1/6837.Z C12Q1/6869.Z A61K35/407 A61L27/36.100 A61L27/38.100 A61L27/38.300 A61L27/40 A61P25/16 A61P43/00.105 G01N33/50.P G01N33/50.Z G01N33/15.Z G01N33/53.D G01N33/543.597 G01N33/543.541.A C12N5/071 C12N15/09.110 A61K38/38 A61K38/55 A61K38/16		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX01 4B063/QX02 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA44 4B065/CA46 4C081/AB11 4C081/CD34 4C081/DA16 4C081/DB08 4C081/DC15 4C084/AA02 4C084/BA44 4C084/CA33 4C084/DA36 4C084/DC34 4C084/DC50 4C084/MA67 4C084/NA14 4C084/ZA151 4C084/ZB211 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/AA03 4C087/BB52 4C087/CA04 4C087/MA67 4C087/NA14 4C087/ZA15 4C087/ZB21		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	62/237248 2015-10-05 US		
其他公开文献	JP2018537118A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

公开了一种诊断帕金森病或鉴定帕金森氏病风险的方法，该方法包括测量血液样本，肝脏样本或肝细胞中的生物分子的量。。还公开了一种用于预防或治疗帕金森病的方法，该方法包括向有此需要的受试者施用多种治疗有效的肝细胞。在一些方面，本发明涉及鉴定用于治疗帕金森氏病的治疗剂的方法。

