

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2025年2月6日(06.02.2025)



(10) 国際公開番号

WO 2025/028596 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 5/0783 (2010.01) C12N 5/0789 (2010.01) 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2024/027484 (74) 代理人: 鎌田 光宜, 外(KAMADA, Mitsunori et al.); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル 高島国際特許事務所 Osaka (JP).
- (22) 国際出願日: 2024年8月1日(01.08.2024)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2023-126651 2023年8月2日(02.08.2023) JP
- (71) 出願人: 株式会社ヘリオス(HEALIOS K.K.) [JP/JP]; 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 倉知 建始(KURACHI, Kenji); 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP). 山田 雅司(YAMADA, Masashi); 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP). 二宮 直登(NINOMIYA, Naoto); 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP). 稲森 雅和(INAMORI, Masakazu); 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP). 木村 博信(KIMURA, Hironobu); 〒1000006 東京都千代田区有楽町一丁目1番2号 株式会社ヘリオス内 Tokyo (JP). 田村 康一(TAMURA, Kouichi); 〒1000006
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING NATURAL KILLER CELLS

(54) 発明の名称: ナチュラルキラー細胞の製造方法

(57) Abstract: The present invention provides methods for producing, from pluripotent stem cells, natural killer (NK) cells or precursor cells thereof. The methods are: a method which is characterized by comprising a) a step for inducing hematopoietic progenitor cells (HPCs) from pluripotent stem cells in vitro, b) a step for amplifying the HPCs in vitro, and c) a step for inducing, from the HPCs, NK cells or precursor cells thereof in vitro, and which is characterized in that a histone methyltransferase and/or an allyl hydrocarbon receptor (AHR) is inhibited in one or more of steps a)-c); and a method which comprises (1) a step for forming, in a first culture medium, pluripotent stem cell spheres having an average particle size of 200 μm or more, (2) a step for inducing a cell population including HPCs through three dimensional culturing of the pluripotent stem cell spheres obtained in step (1) by using a second culture medium containing a histone methyltransferase inhibitor and/or an AHR antagonist, and (3) a step for inducing a cell population including NK cells or precursor cells thereof through three dimensional culturing of the cell population including the HPCs obtained in step (2) by using a third culture medium containing the histone methyltransferase inhibitor and/or the AHR antagonist, and in which one or more of steps (1)-(3) are performed through perfusion culturing, and preferably steps (1)-(3) are performed through continuous perfusion culturing.

WO 2025/028596 A1

[続葉有]

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 補正された請求の範囲及び説明書（条約第19条(1)）

(57) 要約：本発明は、多能性幹細胞からナチュラルキラー（NK）細胞又はその前駆細胞を製造するための方法であって： a) インビトロにおいて、多能性幹細胞から造血前駆細胞（HPC）を誘導する工程； b) インビトロにおいて、HPCを増幅する工程；及び c) インビトロにおいて、HPCからNK細胞又はその前駆細胞を誘導する工程を含み、工程 a) ないし c) の1以上の工程において、ヒストンメチルトランスフェラーゼ及び／又はアリルハイドロカーボン受容体（AHR）を阻害することを特徴とする、方法；並びに、（1）第一の培地中で、平均粒径200 μ m以上の多能性幹細胞スフェアを形成する工程；（2）工程（1）で得られた多能性幹細胞スフェアを、ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤及び／又はAHRアンタゴニストを含む第二の培地を用いた三次元培養によりHPCを含む細胞集団に誘導する工程；並びに（3）工程（2）で得られたHPCを含む細胞集団を、ヒストンメチルトランスフェラーゼ阻害剤及び／又はAHRアンタゴニストを含む第三の培地を用いた三次元培養によりNK細胞又はその前駆細胞を含む細胞集団に誘導する工程を含み、工程（1）ないし（3）の1以上の工程を灌流培養法で行う、好ましくは工程（1）ないし（3）を連続的な灌流培養法で行う、方法を提供する。