

(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
2022年4月28日(28.04.2022)



(10) 国際公開番号

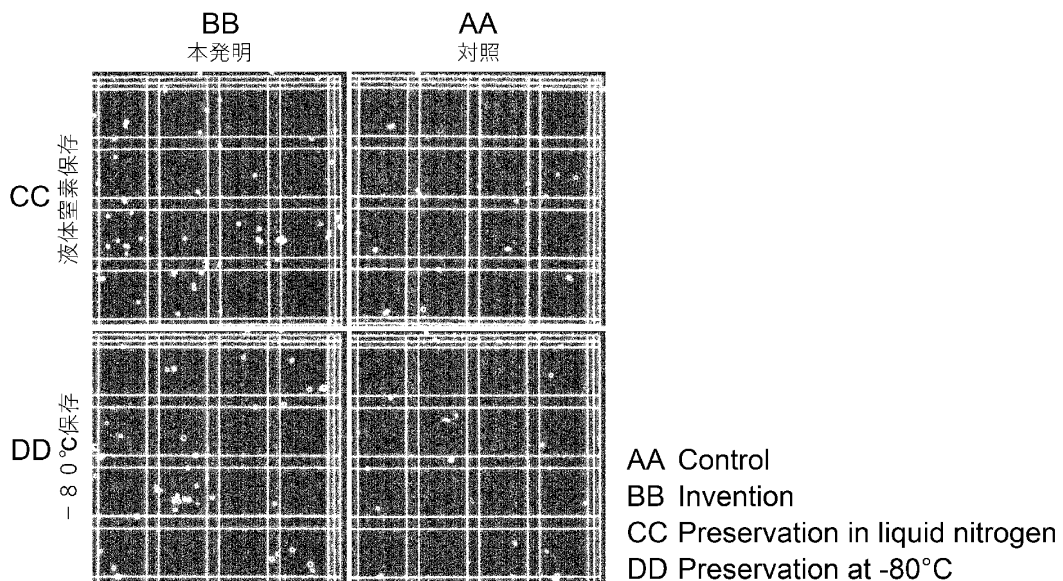
WO 2022/085680 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 5/071 (2010.01) C12N 1/04 (2006.01)
(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/038609
(22) 国際出願日: 2021年10月19日(19.10.2021)
(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 2020-177634 2020年10月22日(22.10.2020) JP
(71) 出願人: 京都府公立大学法人
(KYOTO PREFECTURAL PUBLIC UNIVERSITY CORPORATION) [JP/JP]; 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町4 6 5番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 木下 茂 (KINOSHITA, Shigeru); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町4 6 5番地 京都府公立大学法人京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 戸田 宗豊 (TODA, Munetoyo); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町4 6 5番地 京都府公立大学法人京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 外園 千恵 (SOTOZONO, Chie); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町4 6 5番地 京都府公立大学法人京都府立医科大学内 Kyoto (JP). 上野 盛夫 (UENO, Morio); 〒6028566 京都府京都市上京区河原町通広小路上る梶井町4 6 5番地 京都府公立大学法人京都府立医科大学内 Kyoto (JP).

(54) Title: PRESERVATION METHOD OF HUMAN CORNEAL ENDOTHELIAL CELLS AND/OR HUMAN CORNEAL ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS

(54) 発明の名称: ヒト角膜内皮細胞及び／又はヒト角膜内皮前駆細胞の保存方法



(57) Abstract: The present invention addresses the problem of preserving human corneal endothelial cells and/or human corneal endothelial progenitor cells while maintaining a high survival rate and, in culture after the preservation, minimizing the occurrence ratio of contaminating cells. This preservation method of human corneal endothelial cells and/or human corneal endothelial progenitor cells is characterized by comprising: collecting human corneal endothelial cells and/or human corneal endothelial progenitor cells, said cells having been proliferated using a culture medium which contains a ROCK inhibitor and in which the content of epidermal growth factor (EGF)

[続葉有]

WO 2022/085680 A1

(74) 代理人: 西村 竜平 (NISHIMURA, Ryuhei);
〒6008441 京都府京都市下京区四条町 3 4 7 番
地 1 C U B E 西烏丸 9 階 Kyoto (JP).

(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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, 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))

is lower than the concentration causing transformation, at a time when one or more of the following requirements (a) to (d) are satisfied; and preserving the cells in a suspended state. (a) The period of time from immediately after a morphological change in the human corneal endothelial cells and/or human corneal endothelial progenitor cells from a spindle shape to a polygonal shape with a long diameter/short diameter ratio close to 1 or a circular shape until immediately before the time when boundaries between the cells become indistinct. (b) The period from the time when the expression level of CD44 is half or less of the maximum value observed after the latest subculture until the time when the CD44 expression level reaches a plateau. (c) The time when the cell density of the human corneal endothelial cells and/or human corneal endothelial progenitor cells is from 900 cells/mm² to 2500 cells/mm² inclusive. (d) Between 4-14 culture days inclusive after the latest subculture.

(57) 要約: ヒト角膜内皮細胞及び／又はヒト角膜内皮前駆細胞を、高い生存率を維持したまま保存し、かつ保存後の培養において夾雑細胞の発生割合を小さく抑える。ROCK阻害剤を含有し、かつ上皮成長因子 (EGF) の含有量が形質転換を引き起こす濃度未満である培地を用いて増殖させたヒト角膜内皮細胞及び／又はヒト角膜内皮前駆細胞を、以下に挙げる (a) ~ (d) のいずれか 1 つ又は複数の条件を満たす時期に採取し、懸濁状態にして保存することと特徴とするヒト角膜内皮細胞及び／又はヒト角膜内皮前駆細胞の保存方法。(a) 前記ヒト角膜内皮細胞及び／又は前記ヒト角膜内皮前駆細胞の形態が、紡錘状の形態から長径短径の比が 1 に近い多角形状又は円形状の形態に転じた直後から、細胞間の境界が不明瞭になる直前までの期間である。(b) CD44 の発現量が直近の継代後にみられる最大値の半以下になった時からプラトーに達するまでの期間である。(c) 前記ヒト角膜内皮細胞及び／又は前記ヒト角膜内皮前駆細胞の細胞密度が、900 cells/mm² 以上 2500 cells/mm² 以下である。(d) 直近の継代からの培養日数が、4 日以上 14 日以下である。